

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA



EFFECTO DE EXTRACTOS BIOACTIVOS DE *Eysenhardtia texana* EN LA VIDA DE

ANAQUEL DE TORTILLA DE MAÍZ

POR:

JOSÉ ÁNGEL CRUZ SILVA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

EFFECTO DE EXTRACTOS BIOACTIVOS DE *Eysenhardtia texana* EN LA VIDA DE ANAQUEL DE TORTILLA DE MAÍZ

Por:

JOSÉ ÁNGEL CRUZ SILVA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Aprobada por el jurado examinador



Dr. Javier Israel Montalvo Arredondo

Presidente



Dra. Ana Verónica Charles
Rodríguez



Dra. María Lilliana Flores López

Vocal



Dr. Armando Robledo Olivo

Vocal



M.C Sergio Sánchez Martínez
Coordinador de la División de Ingeniería

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2024

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

EFFECTO DE EXTRACTOS BIOACTIVOS DE *Eysenhardtia texana* EN LA VIDA DE
ANAQUEL DE TORTILLA DE MAÍZ

Por:

JOSÉ ÁNGEL CRUZ SILVA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Aprobada por el Comité de Asesoría



Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez

Asesor Principal Interno



Dra. María Lilita Flores López

Asesor Principal Externo



Dr. Armando Robledo Olivo

Asesor

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2024

MANIFIESTO DE HONESTIDAD ACADÉMICA

El suscrito **José Ángel Cruz Silva**, alumno del programa docente de ingeniero Biotecnología, con número de matrícula **41208927** y autor de la presente tesis manifiesta que:

1. Reconozco que el plagio académico constituye un delito que está penado en nuestro país.
2. Las ideas, opiniones, datos e información publicadas por autores y que han sido incluidas en este trabajo, han sido debidamente citadas, reconociendo la autoría de la fuente original.
3. Toda la información consultada ha sido analizada e interpretada por el suscrito y redactada según su criterio y apreciación, de tal manera que no ha incurrido en el “copiado y pegado” de dicha información.
4. Reconozco la responsabilidad sobre los derechos del autor de los materiales bibliográficos consultados por cualquier vía y manifiesto no haber hecho mal uso de ellos.
5. Entiendo que la función y alcance de mi comité de asesoría está circunscrito a la orientación de guía respecto a la metodología de investigación realizada para el presente trabajo, así como el análisis e interpretación de los resultados obtenidos. Por lo tanto, eximo de toda responsabilidad relacionada al plagio académico a mi comité de asesoría y acepto que cualquier responsabilidad al respecto es únicamente mía.

ATENTAMENTE



José Ángel Cruz Silva

Tesista

AGRADECIMIENTOS

Mi más profundo agradecimiento a Dios, quien se manifiesta en mi vida en todo momento, por brindarme la dicha de vivir y disfrutar este presente.

A mi familia, quienes son mi pilar y mi principal motivo de vida, les agradezco por siempre darme ánimos y por estar conmigo en cualquier dificultad en la vida.

A mi **ALMA MÁTER** por darme la oportunidad de desarrollarme y adquirir nuevos conocimientos que me servirán más adelante en el campo laboral y académica, agradeciendo de antemano a todas las personas que integran la institución y que formaron parte en mi formación académica y personal.

A la **Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez**, por permitirme formar parte de este proyecto de tesis, así como dirigir la misma, por su gran apoyo y entera disposición en cualquier momento, buscando siempre alternativas y mostrando interés en el desarrollo del proyecto y en mi aprendizaje.

A la **Dra. María Liliana Flores López**, cuya guía, paciencia, motivación y apoyo incondicional fueron fundamentales durante todo el proceso de mi proyecto de tesis. Su dedicación y compromiso no solo enriquecieron este trabajo, sino que también contribuyó en mi formación académica y personal.

Al **Dr. Armando Robledo Olivo** por su amabilidad y entera disposición durante el desarrollo de este proyecto, por su apoyo incondicional en el equipamiento del Laboratorio de Fermentaciones y Biomoléculas.

Al técnico laboratorista **Carlos Arévalo**, por su constante disposición y confianza al facilitar el uso del material de laboratorio. Su valiosa contribución fue fundamental para el desarrollo de este proyecto de tesis, así como para mi crecimiento y aprendizaje durante este proceso.

Agradezco al **Ing. Pablo Virgen**, que me permitió realizar diversas experimentaciones del proyecto de tesis en las instalaciones de BIOCAMPO, Arteaga Coahuila.

Al **Dr. Javier Israel Montalvo**, **Dr. Julio Cesar Tafolla Arellano**, **Dr. Marco Adán Juárez**, **Dra. Silvia Yudith Martínez** y **M.C. Carlos García Agustince**, por contribuir en mi aprendizaje y formación académica.

Agradezco al **Dr. Alberto Margarito García Munguía**, que con amabilidad y confianza me aceptó para formar parte del equipo de trabajo de la empresa SANAGRI S.A de C.V. en la realización de mis prácticas profesionales, brindándome su entera disposición y confianza, además de hacerme sentir como en casa. Es preciso agradecer de igual manera a su grupo de trabajo, quienes con su amabilidad y respeto generaron en mí gran confianza.

Al **Dr. Otilio García Munguía, M.C. Rey Natanael Contreras, M.C. Christian Manuel de la Rosa, Ing. Luis Alberto Prieto Baeza** quienes contribuyeron significativamente a mi aprendizaje durante el lapso de prácticas profesionales. Gracias por explicarme y orientarme en todo momento y por resolverme dudas.

A mis amigos y compañeros de laboratorio: **Lorena Santiago, Daniel Cabrera, Verónica Soriano y Ana Puga**, les agradezco infinitamente por su tiempo y disposición siempre, sus ánimos y por brindarme su apoyo para la realización de este proyecto.

A mis amigos y compañeros de carrera: **Luis Antonio Hernández** quien a lo largo de mi formación académica me ha acompañado, **Aylin Gutiérrez, Liliana Nava, David Sánchez**.

También agradezco a mis amigos **Rafael Romero Negrete, Zuleyma Aguilar, Hazel Rivera, Débora Barragán**, que me han acompañado y brindado su apoyo desde el inicio de mi vida universitaria.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento y cariño a **Rafael Romero Negrete**, quien ha sido mi mejor amigo desde la preparatoria y a lo largo de mi vida universitaria. Su constante apoyo y disposición incondicional han sido fundamentales en mi recorrido académico. La comunicación frecuente y el mutuo compromiso han forjado un vínculo de amistad profundo, del cual estoy plenamente seguro que seguirá fortaleciéndose con el tiempo.

Agradezco infinitamente a aquellas personas que al poco tiempo formaron parte de mi vida y parte de mi familia: **Cristina Sánchez, Jesús Salvador Luna, Karla A. Luna, Salvador Luna, Laura Luna, Guadalupe Luna, Arturo Rivera, Azael**, etcétera. Reitero mi agradecimiento por su entera confianza hacia mí y por siempre guiarme en mi caminar, por sus consejos que siempre son considerados y tomados en cuenta, por su gran apoyo y disponibilidad.

Me permito agradecer especialmente a mi tía postiza, **Cristina Sánchez**, por su constante confianza y apoyo hacia mí. Su calidez, sus acciones desinteresadas y su amor han dejado una huella imborrable en mi corazón. No tengo palabras suficientes para agradecerle por todo lo que ha hecho por mí, desde sus gestos cotidianos hasta el apoyo incondicional en los momentos más importantes. Su presencia ha sido una bendición, y siempre estaré agradecido. También a mi padrino, **Jesús Salvador Luna Álvarez**, por su constante confianza, cariño y apoyo incondicional los cuales han sido un pilar fundamental en mi vida. Siempre ha creído en mí, alentándome a seguir adelante incluso en los momentos más desafiantes. Su generosidad y su capacidad para brindarme palabras de ánimo y sabios consejos han sido una fuente de fortaleza y motivación para mi vida personal y académica. Extiendo mi gratitud a sus hijos, Karla Luna, Salvador Luna y Laura Luna, quienes al igual siempre me han hecho sentir bienvenido y parte de su familia. Su calidez y apoyo han significado mucho para mí.

Quiero expresar mi infinita gratitud a todas las personas que han formado parte de mi vida, ya que sin su apoyo y disposición incondicional no habría podido llegar hasta este momento. En especial, quiero agradecer a los académicos que me brindaron su respaldo a lo largo de mi formación académica y profesional: la **Lic. Marina**, la **Lic. María Guadalupe Domínguez** y su familia, la **Lic. Patricia Lara**, el **Lic. Francisco de la Rosa**, la **Lic. Cecilia**, la **Lic. Natalia**, la **Lic. María Ávila Camargo**, el **Lic. Axel Ruiz**, el **Prof. Edgar Quiroz**, la **Profa. Magdalena Sánchez**, la **Ing. Francisca Molina**, la **Ing. Yesenia Barrera**, la **Lic. Rosalba Alaníz Romero** y la **Lic. Zuleyma Barrera**, **Ing. Juan Antonio Álvarez**, **Lic. Adán Villanueva Ruiz**. Gracias por su apoyo incondicional y por haber dejado una huella significativa en mi vida. Estoy seguro de que los lazos de amistad y cariño que hemos construido perdurarán y se fortalecerán con el tiempo, acompañados siempre de una comunicación cercana y constante.

Finalmente, quiero agradecer a todas las personas, las cuales sus nombres no están en este apartado, les agradezco por formar parte de mi vida.

DEDICATORIA

A mi madre, la Sra. Margarita Silva Cruz, mi más profundo agradecimiento por su apoyo incondicional en todo momento y por estar siempre a mi lado, especialmente en los momentos más difíciles de mi vida. Eres una mujer extraordinariamente fuerte y excepcional, a quien admiro profundamente por tu valentía y determinación para superar cualquier obstáculo, por más desafiante que sea. Este logro está dedicado especialmente a ti, mamá, con todo mi amor y gratitud.

A mi padre, el Sr. Feliciano Cruz Silva, por el gran apoyo brindado durante toda mi formación académica, por sus sabios consejos y por enseñarme a enfrentar la vida.

A mis queridos hermanos y hermanas, Daniel, Berenice, Jonathan y Beatriz Adriana, quiero expresarles mi más profundo agradecimiento por su constante cariño y apoyo incondicional. Gracias por enseñarme, con su ejemplo, que los grandes retos se superan con trabajo, esfuerzo y determinación. Los admiro profundamente por su valentía y por la forma en que enfrentan la vida para alcanzar sus sueños y salir adelante. Aunque a veces no suelo expresarles todo mi afecto como quisiera, quiero que sepan que los quiero y los amo muchísimo. Ustedes son una parte fundamental de mi vida, y siempre llevaré en mi corazón el orgullo de ser su hermano.

A mi tía postiza, la Sra. Cristina Sánchez González, por abrirme las puertas de su casa desde el primer día, sin conocerme, y por brindarme su apoyo incondicional siempre que lo he necesitado. Gracias por hacerme sentir bienvenido y parte de su familia.

A mi padrino, el Sr. Jesús Salvador Luna Álvarez, por su generosidad al abrirme las puertas de su casa y por ofrecerme su plena confianza. Su calidez y apoyo han sido fundamentales en mi vida y siempre los llevaré conmigo.

Los quiero mucho, y aunque el destino nos lleve por caminos distintos, sepan que siempre los tendré presentes en mi mente y en mi corazón. A mis tíos y padrino, nunca los olvidaré y siempre los recordaré con gratitud y cariño.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS -----	I
DEDICATORIA -----	IV
ÍNDICE GENERAL -----	V
INDICE DE FIGURAS -----	VIII
INDICE DE CUADROS -----	X
RESUMEN -----	1
ABSTRACT -----	3
1 INTRODUCCIÓN -----	5
1.1 Antecedentes -----	5
1.2 Justificación -----	6
1.3 Hipótesis -----	9
1.4 Objetivo general -----	9
1.5 Objetivos específicos-----	9
2 REVISIÓN DE LITERATURA -----	10
2.1 Cultura de la tortilla de maíz-----	10
2.2 Valor nutrimental de la tortilla de maíz-----	10
2.3 Proceso de elaboración-----	11
2.4 Formas de almacenamiento -----	14
2.5 Propiedades fisicoquímicas -----	14
2.6 Causas de deterioro de la tortilla de maíz -----	15
2.7 Uso de conservadores en la tortilla de maíz para incrementar la vida de anaquel-----	16
2.8 Nuevas alternativas para incrementar la vida de anaquel en la tortilla de maíz -----	18
2.9 Potencial bioactivo de plantas de zonas áridas y semiáridas de México-----	18
2.10 <i>Eysenhardtia texana</i> -----	19

2.10.1	Clasificación taxonómica	-----	20
2.10.2	Distribución	-----	21
2.10.3	Composición química y potencial bioactivo	-----	21
3	MATERIALES Y MÉTODOS	-----	24
3.1	Reactivos	-----	24
	ETAPA I. Obtención y caracterización fisicoquímica de extractos de <i>E. texana</i> empleando solventes convencionales y disolventes eutécticos profundos	-----	25
3.2	Obtención de materia prima	-----	25
3.2.1	Caracterización fisicoquímica	-----	26
3.2.2	Azúcares totales y reductores	-----	27
3.3	Contenido de Fenoles Totales (CFT) de la materia prima	-----	28
3.4	Obtención de extractos de <i>E. texana</i> empleando solventes convencionales y disolventes eutécticos profundos	-----	29
3.4.1	Obtención de extractos de <i>E. texana</i> empleando solventes convencionales	-----	29
3.4.2	Preparación de disolventes eutécticos profundos (DEP) y su empleo para la obtención de extractos de <i>E. texana</i>	-----	30
3.5	Azúcares totales y reductores	-----	32
3.6	Contenido de Fenoles Totales (CFT)	-----	32
3.7	Contenido total de flavonoides (CTF)	-----	33
	ETAPA II. Evaluación y comparación de las propiedades bioactivas de extractos de <i>E. texana</i> obtenidos con solventes convencionales y disolventes eutécticos profundos	-----	33
3.8	Actividad antioxidante	-----	33
3.8.1	DPPH	-----	33
3.8.2	ABTS	-----	34
3.9	Actividad antifúngica <i>in vitro</i>	-----	35

ETAPA III. Efecto de la incorporación de extractos bioactivos de <i>E. texana</i> en la vida de anaquel de tortilla de maíz	38
3.10 Proceso de nixtamalización	38
3.11 Incorporación de extractos de <i>E. texana</i>	38
3.12 Proceso de elaboración y almacenamiento	39
3.13 Evaluación de parámetros fisicoquímicos	40
3.14 Análisis estadísticos	42
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
ETAPA I. Obtención y caracterización fisicoquímica de extractos de <i>E. texana</i> empleando solventes convencionales y disolventes eutécticos profundos	43
4.1 Caracterización fisicoquímica de materia prima	43
4.2 Producción de extractos de <i>E. texana</i> empleando solventes convencionales y disolventes eutécticos profundos	46
4.3 Cuantificación de azúcares totales y reductores de extractos	48
4.4 Contenido de Fenoles Totales (CFT) y contenido total de flavonoides (CTF)	50
ETAPA II. Evaluación y comparación de las propiedades bioactivas de extractos de <i>E. texana</i> obtenidos con solventes convencionales y disolventes eutécticos profundos	53
4.5 Actividad antioxidante	53
4.6 Actividad antifúngica	56
ETAPA III. Efecto de la incorporación de extractos bioactivos de <i>E. texana</i> en la vida de anaquel de tortilla de maíz	59
4.7 Evaluación de parámetros fisicoquímicos	59
4.8 Evaluación visual del color en la tortilla de maíz	64
5 CONCLUSIONES	68
6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Procesamiento tradicional para la elaboración de tortilla de maíz-----	12
Figura 2. Zonas áridas y semiáridas de México-----	19
Figura 3. Arbusto de <i>E. texana</i> con inflorescencias. -----	20
Figura 4. Distribución geográfica de <i>E. texana</i> . -----	21
Figura 5. Localización geográfica del muestreo de hojas y ramas de <i>E. texana</i> . -----	25
Figura 6. Tamizaje de la materia prima en hojas (a) y ramas (b). -----	26
Figura 7. a) Humedad, b) Cenizas, c) Digestión de proteína, c.1) Proteína en microKjendahl, d) Grasas, e) Fibra cruda. -----	27
Figura 8. A) Pesaje de muestras (hojas y ramas), B) Filtro de muestras, C) Obtención de muestras filtradas.-----	28
Figura 9. Pasos consecutivos para la extracción con solventes convencionales.-----	29
Figura 10. Extractos obtenidos de hojas y ramas. A) E-A; Hojas, B) E-A; Ramas, C) E; Hojas, D) E; Ramas, E) A; Hojas, F) A; Ramas. -----	30
Figura 11. A) Pesaje de cada compuesto químico, B) Obtención de los DEP previa agitación y calentamiento.-----	31
Figura 12. Extractos obtenidos a partir de DEP. -----	31
Figura 13. Determinación del contenido de azúcares en extractos de <i>E. texana</i> (hojas y ramas). 32	
Figura 14. Metodología desarrollada para determinar CFT en extractos de <i>E. texana</i> . -----	32
Figura 15. a) Determinación de contenido total de flavonoides en extractos de <i>E. texana</i> . -----	33
Figura 16. Determinación de actividad antioxidante por el método de DPPH. -----	34
Figura 17. Determinación de actividad antioxidante por el método de ABTS.-----	35
Figura 18. A) Siembra de <i>A. niger</i> , B) <i>A. niger</i> después de 7 días en incubación, C) Caracterización por microscopía. -----	36

Figura 19. A) Conteo de esporas, B) Preparación de concentraciones, C) Preparación de la solución de esporas, 1×10^4 Esp/mL, D) Montaje en microplaca, E) Crecimiento del hongo a las 96 h. -----	37
Figura 20. A) Preparación de la solución de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 2% (m/v), B) Triturado del nixtamal en molino de piedra. -----	38
Figura 21. Proceso de elaboración de tortilla de maíz e incorporación de extractos.-----	39
Figura 22. Almacenamiento y empaque.-----	40
Figura 23. Análisis fisicoquímicos. a) diámetro, b) espesor, c) humedad, d) pH, e) color, f) firmeza. -----	41
Figura 24. Porcentajes de inhibición de <i>A. niger</i> con extractos convencionales y con DEP obtenidos de hojas a distintas concentraciones. Letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$). -----	57
Figura 26. Evolución de la característica visual del color en tortillas de maíz utilizadas como controles. -----	64
Figura 27. Evolución en la característica visual de color en la tortilla de maíz adicionadas con el extracto DEP4. -----	65
Figura 28. Evolución en la característica visual de color en la tortilla de maíz adicionadas con el extracto DEP5. -----	66
Figura 25. Análisis físico- químicos. a) diámetro, b) espesor, c) humedad, d) pH, e) color, f) firmeza -----	52

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Especificaciones microbiológicas de aflatoxinas en productos a base de maíz -----	13
Cuadro 2. Especificaciones microbiológicas de productos a base de maíz -----	13
Cuadro 3. Propiedades de los conservadores comúnmente empleados en la industria alimentaria -----	17
Cuadro 4. Clasificación taxonómica de <i>E. texana</i> . -----	20
Cuadro 5: Compuestos reportados en un extracto con metanol-diclorometano a partir de hojas de <i>E. texana</i> . -----	22
Cuadro 6. DEP empleados para la obtención de extractos de acuerdo a diferentes fuentes consultadas. -----	30
Cuadro 7. Análisis fisicoquímicos en hojas y ramas de <i>E. texana</i> .-----	43
Cuadro 8. Rendimiento de extractos de hojas y ramas de <i>E. texana</i> . -----	47
Cuadro 9. Azúcares totales y reductores de extractos de hojas y ramas de <i>E. texana</i> . -----	48
Cuadro 10. Contenido de Fenoles Totales (CFT) y contenido total de flavonoides (CTF) de extractos de <i>E. texana</i> . -----	50
Cuadro 11. Contenido de actividad antioxidante de extractos de <i>E. texana</i> mediante técnicas de DPPH y ABTS. -----	54
Cuadro 12. Monitoreo de diámetro (cm) en la vida de anaquel de tortilla de maíz a 4°C durante 15 días.-----	59
Cuadro 13. Monitoreo espesor (cm) en la vida de anaquel de tortilla de maíz a 4°C durante 15 días. -----	60
Cuadro 14. Monitoreo de contenido de humedad (%) en la vida de anaquel de tortilla de maíz a 4°C durante 15 días.-----	60
Cuadro 15. Monitoreo de pH en la vida de anaquel de tortilla de maíz a 4°C durante 15 días.---	61
Cuadro 16. Monitoreo de firmeza (N) en la vida de anaquel de tortilla de maíz a 4°C durante 15 días.-----	62

RESUMEN

La tortilla de maíz, debido a su elevado contenido de humedad y actividad acuosa, crea un entorno propicio para el desarrollo de microorganismos, lo que limita su vida útil. Aunque la industria utiliza conservadores químicos para prolongarla, su consumo frecuente puede tener efectos negativos en la salud. En este contexto, el presente estudio se centró en la planta *Eysenhardtia texana*, conocida comúnmente como "palo dulce" o "riñonera de Texas", utilizada tradicionalmente para tratar afecciones renales. A pesar de su uso en la medicina popular, la información científica sobre su potencial bioactivo es limitada, al igual que su exploración para aplicaciones en diversos campos. Dada su riqueza en compuestos bioactivos, *E. texana* podría representar una alternativa natural como conservador de alimentos, contribuyendo a extender la vida útil de productos como la tortilla de maíz al inhibir el desarrollo de microorganismos. Por ello, los objetivos de este trabajo fueron: (1) caracterizar fisicoquímicamente la materia vegetal de *E. texana*, así como realizar la caracterización fitoquímica de los extractos obtenidos de hojas y ramas mediante solventes convencionales y disolventes eutécticos profundos (DEP); (2) evaluar y comparar las propiedades bioactivas de los extractos obtenidos; y (3) analizar la influencia de parámetros fisicoquímicos en la incorporación de los extractos bioactivos en tortillas de maíz, con el fin de extender su vida de anaquel.

En general, las hojas y ramas de *E. texana* presentaron bajos contenidos de grasas y proteínas, mientras que los niveles de carbohidratos, azúcares totales y reductores fueron elevados.

Se utilizaron los siguientes solventes: hidroalcohólicos (E-A), acuoso (A) y etanólico (E). Se emplearon cinco DEP: DEP1 (ácido cítrico + glicerol), DEP2 (acetato de sodio + glicerol), DEP3 (ácido láctico + D-glucosa + agua), DEP4 (ácido láctico + acetato de sodio + agua) y DEP5 (ácido acético + cloruro de colina + agua).

Se realizaron análisis para determinar el contenido de fenoles totales (CFT), contenido total de flavonoides (CTF) y actividad antioxidante mediante los métodos de DPPH y ABTS. Los extractos de hojas con DEP mostraron altos niveles de CFT, destacando especialmente DEP5 con valores de 20.87 ± 2.36 mg equivalentes ácido gálico (EAG)/g. En ramas, DEP3, DEP4 y DEP5 presentaron valores destacados. En la cuantificación de CTF, en hojas, DEP2 presentó valores de 40.17 ± 5.68 mg equivalentes de quercetina (EQE)/g y DEP3 valores de 44.60 ± 3.61 mg EQE/g

fueron los más altos, seguidos de E-A (30.62 ± 1.57 mg EQE/g). En ramas, E-A mostró el mayor contenido (29.44 ± 2.10 mg EQE/g), seguido por DEP2 (27.31 ± 3.27 mg EQE/g) y DEP3 (26.84 ± 2.47 mg EQE/g), mientras que DEP4 y DEP5 presentaron niveles más bajos. En cuanto a la actividad antioxidante, DEP1 mostró valores altos en hojas con DPPH con valores de 92.69 ± 4.87 mg Equivalentes Trolox (ET)/g, mientras que DEP4 y DEP5 fueron efectivos en ramas. En el análisis con ABTS, DEP2 fue el más destacado en hojas (106.25 ± 5.24 mg ET/g) y ramas (112.67 ± 2.01 mg ET/g).

Se evaluó la capacidad antifúngica *in vitro* de los extractos E-A, A, DEP3, DEP4 y DEP5 en tres concentraciones (0.5%, 5% y 20% v/v). Los resultados demostraron que los DEP lograron una inhibición del 100% en todas las concentraciones bajo estudio, tanto en hojas como en ramas. Sin embargo, los extractos con solventes convencionales no mostraron actividad antifúngica en ninguno de los tratamientos.

Para analizar el efecto de los extractos en las tortillas de maíz, se incorporaron DEP4 y DEP5 en concentraciones de 0.2% y 0.4%. Los resultados indicaron que estos tratamientos presentaron menores contenidos de humedad en comparación con los controles, lo que representa un avance prometedor para reducir la proliferación de microorganismos y, por lo tanto, extender la vida útil de las tortillas.

Los extractos de *E. texana* obtenidos mediante DEP tienen un alto potencial para inhibir *A. niger* a concentraciones bajas, y posiblemente contra otros hongos y bacterias. Esto sugiere aplicaciones prometedoras en la industria como conservantes en alimentos, en el sector agrícola, en medicina, entre otros campos.

Palabras clave: *Eysenhardtia texana*; extractos bioactivos; tortilla de maíz; vida de anaquel, *Aspergillus niger*; capacidad antifúngica; compuestos bioactivos

ABSTRACT

Corn tortillas, due to their high moisture content and water activity, create an environment conducive to microbial growth, thereby limiting their shelf life. Although the food industry employs chemical preservatives to extend shelf life, frequent consumption of these compounds may have negative health effects. In this context, the present study focused on *Eysenhardtia texana*, commonly known as "sweet palo" or "Texas kidney bean," traditionally used to treat renal conditions. Despite its use in folk medicine, scientific information regarding its bioactive potential is limited, as is its exploration for applications across diverse fields. Given its richness in bioactive compounds, *E. texana* could represent a natural alternative as a food preservative, contributing to the extension of shelf life for products such as corn tortillas by inhibiting microbial growth. The objectives of this study were: (1) to conduct a physicochemical characterization of *E. texana* plant material and a phytochemical characterization of extracts obtained from leaves and stems using conventional solvents and deep eutectic solvents (DES); (2) to evaluate and compare the bioactive properties of the obtained extracts; and (3) to analyze the influence of physicochemical parameters on the incorporation of bioactive extracts into corn tortillas to extend their shelf life.

The study found that the leaves and stems of *E. texana* exhibited low levels of fats and proteins, while carbohydrate, total sugar, and reducing sugar levels were elevated. The study utilized hydroalcohol (E-A), aqueous (A), and ethanol (E) solvents along with five deep eutectic solvents (DES): DEP1 (citric acid + glycerol), DEP2 (sodium acetate + glycerol), DEP3 (lactic acid + D-glucose + water), DEP4 (lactic acid + sodium acetate + water), and DEP5 (acetic acid + choline chloride + water). Analysis was performed to measure total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), and antioxidant activity using DPPH and ABTS assays.

The analysis revealed that leaf extracts obtained with DES exhibited elevated total phenolic content, with DEP5 showing the highest value at 20.87 ± 2.36 mg Gallic Acid Equivalents (GAE)/g. In the stems, DEP3, DEP4, and DEP5 showed significant total phenolic values. For total flavonoid content, DEP2 presented 40.17 ± 5.68 mg Quercetin Equivalents (QE)/g in leaves, while DEP3 showed 44.60 ± 3.61 mg QE/g, followed by E-A (30.62 ± 1.57 mg QE/g). In stems, E-A exhibited the highest flavonoid content at 29.44 ± 2.10 mg QE/g, followed by DEP2 (27.31 ± 3.27 mg QE/g) and DEP3 (26.84 ± 2.47 mg QE/g), while DEP4 and DEP5 displayed lower levels. Antioxidant activity was assessed using the DPPH and ABTS methods, showing promising results.

In the DPPH assay, DEP1 demonstrated high activity in leaves (92.69 ± 4.87 mg Trolox Equivalents (TE)/g), while DEP4 and DEP5 exhibited effective activity in stems. In the ABTS assay, DEP2 showed the most significant activity in both leaves (106.25 ± 5.24 mg TE/g) and stems (112.67 ± 2.01 mg TE/g).

Additionally, the antifungal properties of the E-A, A, DEP3, DEP4, and DEP5 extracts were assessed against *Aspergillus niger* at three concentrations (0.5%, 5%, and 20% v/v) through *in vitro* testing. The results demonstrated that DES extracts achieved 100% inhibition across all tested concentrations in both leaves and stems. Conversely, conventional solvent extracts did not exhibit antifungal activity at any of the tested concentrations. To evaluate the effect of these extracts in practical food applications, DEP4 and DEP5 were incorporated into corn tortillas at concentrations of 0.2% and 0.4%. The results indicated that these treatments resulted in lower moisture content compared to the control samples, representing a significant advancement in reducing microbial growth and extending the shelf life of corn tortillas.

The study concluded that *E. texana* extracts obtained using deep eutectic solvents exhibit high potential to inhibit *A. niger* at low concentrations and may also display inhibitory effects against other fungi and bacteria. These findings suggest promising applications for these extracts as natural food preservatives, in agricultural practices, and in medical and pharmaceutical applications.

Keywords: *Eysenhardtia texana*; bioactive extracts; corn tortilla, shelf life, *Aspergillus niger*, antifungal activity; bioactive compounds

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

Se tiene estimado que la población en México ya había aprendido a nixtamalizar el grano de maíz, para la elaboración de tortilla, desde hace 500 a. C; diversos estudios demuestran que ya se nixtamalizaba el maíz y se hacían tortillas durante el formativo tardío, es decir, desde 400 a. C. al 100 d. C. (Rodríguez Calderón, et al., 2017). Hasta entonces, de manera tradicional, los productores de tortillas añaden a la misma algún agente alcalino que puede ser ceniza o cal, lo cual le otorga cualidades sensoriales, mejora su calidad nutricional e incluso alarga la vida de anaquel (Morales-Ramírez y Tapia-García, 2021). En contraste, las industrias de alimentos, particularmente las dedicadas a la producción de tortillas de maíz, emplean procesos significativamente distintos, como la incorporación de aditivos químicos diseñados para conferir propiedades específicas al producto final, tales como el color, textura o sabor (Sánchez y Vázquez, 2018). Además, estas prácticas suelen estar orientadas a extender la vida útil del producto, lo que a menudo resulta en una notable disminución de sus beneficios nutricionales (Mier Sainz-Trapaga, et al., 2022).

La etnobotánica es esencial para la investigación científica de plantas, ya que examina las interrelaciones entre las personas y las plantas desde un enfoque multidisciplinario (Popović, et al., 2016). Durante el siglo XX, el estudio de los recursos vegetales en la medicina tradicional cobró impulso con el objetivo de descubrir nuevos tratamientos para una amplia variedad de afecciones (Benzie and Wachtel-Galor, 2011, Bone and Mills, 2013). Se tiene conocimiento de que un pequeño porcentaje de las especies de plantas que viven en la Tierra (250,000–500,000) ha sido investigado fitoquímicamente por sus propiedades farmacológicas (Rates, 2001). De acuerdo a estudios realizados por Payne et al. (2001) se tiene el registro que solo 5,000 especies de plantas han sido estudiadas con evidencia de uso medicinal. Las plantas de zonas áridas y semiáridas de México son gran interés debido a su riqueza en compuestos bioactivos y su amplia gama de propiedades biológicas (Guía- García, et al., 2021). Especies como *Rhus pachyrrhachis*, *R. virens* (Juárez-Aragón, et al., 2019), *Flourensia cernua*, *R. microphylla*, *Myrtillocactus geometrizans*, *Juglans microcarpa* y *Carya ovata* han demostrado actividades antimicrobianas, citotóxicas, antioxidantes y un alto contenido de fenoles totales (Guía-García et al., 2021; Jasso de Rodríguez et al., 2019; Méndez et al., 2012). Recientemente, *Eysenhardtia texana*, una especie nativa de las zonas áridas y semiáridas de México, ha comenzado a llamar la

atención por su potencial bioactivo y aplicaciones en diversos campos. Esta planta, conocida comúnmente como “Palo dulce” o “Riñonera de Texas, se ha utilizado tradicionalmente en infusiones para tratar diversas afecciones, lo que sugiere la presencia de compuestos bioactivos con propiedades terapéuticas. Estudios preliminares han identificado en *E. texana* una alta concentración de flavonoides y otros metabolitos secundarios con posibles actividades antioxidantes, antimicrobianas y antiinflamatorias (Franklin Pacheco et al., 2021). En este contexto, el presente trabajo tiene como objetivo explorar y caracterizar las propiedades bioactivas de extractos de *E. texana* obtenidos mediante métodos convencionales y no convencionales, como los solventes eutécticos profundos, evaluando su impacto en la vida de anaquel de tortillas de maíz, como alimento modelo. Este abordaje no solo busca destacar el valor agregado de *E. texana* en la industria alimentaria, sino también contribuir al aprovechamiento sostenible de esta planta, alineándose con tendencias globales de innovación y sostenibilidad.

1.2 Justificación

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2016), el 94% de los mexicanos consume tortilla de maíz, consolidando a México como el principal consumidor de este alimento. Sin embargo, uno de los mayores desafíos para los consumidores es su corta vida útil, ya que las propiedades fisicoquímicas del producto, como textura, rollabilidad, firmeza y pH, se deterioran rápidamente.

La tortilla de maíz presenta una gran actividad de agua (a_w) y un elevado contenido de humedad y almidón (azúcares), los que crea un ambiente ideal para la proliferación masiva de microorganismos, principalmente hongos y bacterias. Esta proliferación no solo reduce la vida útil del producto, haciéndolo no para para el consumo, sino que también genera sustancias tóxicas, como toxinas y aflatoxinas, a partir del metabolismo secundario de estos microorganismos. Estas sustancias representan un riesgo para la salud humana, ya que pueden causar enfermedades respiratorias y otros problemas de salud.

Para enfrentar este problema, las industrias alimentarias, específicamente las dedicadas a la producción de tortilla de maíz, han implementado el uso de conservadores y aditivos químicos. Uno de los conservadores más utilizados para este fin es el propionato de sodio, un conservador específicamente para inhibir la proliferación de hongos y bacterias; otros de los conservadores usados en esta área de la industria son sorbatos, benzoato de sodio, propionato de calcio, hidróxido

de calcio. Sin embargo, el consumo de estos conservadores puede afectar notablemente las características sensoriales del alimento (color, olor, sabor, etc.). Así mismo, el consumo progresivo y constante de tortillas que contienen estos tipos de conservadores comerciales (químicos) pueden tener efectos nocivos a la salud. De acuerdo a un estudio realizado por Cardoso et al. (2017) y Aun et al. (2011), señalan que este tipo de conservadores, al ser consumidos frecuentemente, son capaces de desencadenar reacciones adversas, como reacciones alérgicas, cambios de comportamiento y carcinogenicidad.

Debido a los grandes problemas de salud asociados al uso de conservadores químicos, se busca desarrollar alternativas a partir de fuentes naturales de compuestos bioactivos que sean seguras y eficaces, manteniendo las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de los alimentos y asegurando su accesibilidad. En este contexto, las plantas de zonas áridas y semiáridas adquieren gran relevancia debido a sus propiedades bioactivas, como actividades antioxidante, antimicrobiana, antifúngica, antiproliferativa, ampliamente demostradas en estudios recientes. La presente investigación tiene impacto en los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la Agenda 2030 de la Organización de las Naciones Unidas (ONU), impactando en cuatro objetivo: el objetivo “Hambre cero” (ODS 2), al promover la erradicación del hambre y la mejora de la nutrición mediante alternativas seguras para la conservación de alimentos; el objetivo “Salud y bienestar” (ODS 3), al reducir riesgos sanitarios asociados al uso de conservadores químicos y controlar enfermedades relacionadas con alimentos contaminados; el objetivo “Industria, innovación e infraestructura” (ODS 9), al impulsar el desarrollo de tecnologías verdes e innovadoras para la industria alimentaria; y el objetivo “Producción y consumo responsables” (ODS 12), al fomentar el uso de recursos sostenibles y seguros, como conservadores reconocidos como seguros, es decir, de tipo GRAS (Generally Recognized As Safe), promoviendo un consumo eficiente y sostenible.

El proyecto de investigación tiene un impacto directo en los Programas Nacionales Estratégicos (PRONACES) de México, específicamente en los programas “Salud” y “Soberanía alimentaria”. Esto se debe a que aborda cuestiones relacionadas con la salud de los consumidores, al buscar alternativas para evitar el uso de conservadores químicos que puedan causar daños a la salud. Además, promueve una producción más sostenible, pues fomenta una dieta más saludable para los consumidores y contribuye a la autosuficiencia alimentaria.

En este contexto, la presente investigación propone estudiar el efecto de los extractos bioactivos de *E. texana* en la vida de anaquel de tortilla de maíz, utilizando principalmente Disolventes Eutécticos Profundos (DEP), con el objetivo de ofrecer soluciones innovadoras y sostenibles en la industria alimentaria.

1.3 Hipótesis

Los extractos bioactivos de *E. texana* tienen propiedades que influyen positivamente a prolongar la vida de anaquel de tortilla de maíz, al mejorar la calidad y controlar la contaminación microbiana.

1.4 Objetivo general

Estudiar las propiedades bioactivas de extractos de *E. texana* y su impacto sobre la vida de anaquel de tortilla de maíz.

1.5 Objetivos específicos

- Obtener y caracterizar fisicoquímicamente los extractos de *E. texana* empleando solventes convencionales y solventes eutécticos profundos.
- Evaluar y comparar las propiedades bioactivas de extractos de *E. texana* obtenidos con solventes convencionales y solventes eutécticos profundos.
- Estudiar el efecto de la incorporación de extractos bioactivos de *E. texana* en la vida de anaquel de tortilla de maíz.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Cultura de la tortilla de maíz

El maíz (*Zea mays*), eje central de la milpa, ha sido desde tiempos ancestrales un componente fundamental de la dieta mesoamericana, y continúa siendo esencial en la alimentación actual, especialmente en forma tortillas, que presentan diversas características organolépticas (Rodríguez Calderón, 2017). Se estima que, desde alrededor del 500 a. C., la población en México ya había dominado el proceso de nixtamalización del grano de maíz para la elaboración de tortillas. Diversos estudios han demostrado que la nixtamalización y la preparación de tortillas se realizaban desde el periodo comprendido entre el 400 a. C. y el 100 d. C. (González-Jácome y Reyes, 2014). Además, la alimentación de una comunidad no solo satisface necesidades nutricionales, sino que también forma una parte integral de su patrimonio cultural, reflejando dinámicas socioeconómicas y connotaciones profundas en cuanto a su simbolismo cultural (García-Urigüen, 2012).

Según Ortega-Paczka (2003), los hallazgos de diversos restos arqueológicos sugieren que otras plantas predominaron durante mucho tiempo en la dieta de los antiguos habitantes, mientras que el maíz fue ganando popularidad gradualmente a medida que fue domesticado y consumido. En este mismo sentido, el maíz es actualmente el alimento más importante en la dieta de la mayoría de los habitantes de México. Esto se corrobora de acuerdo a la FAO (2016), que indica que el 94% de los mexicanos consume tortilla de maíz, con un consumo per cápita de 335 g/día, lo que es equivalente a 122 kg al año por persona.

El consumo de este alimento es mayor en las poblaciones rurales que en las urbanas. Se estima que el consumo diario de tortillas por persona en zonas rurales es de 217.9 g (aproximadamente 27 g por tortilla, lo que equivale a 8 tortillas al día), mientras que en las zonas urbanas este indicador es de 155.4 g (6 tortillas al día). Además, los consumidores de ingresos medios prefieren tortillas de color blanco elaboradas con maíz nixtamalizado. Aquellos con ingresos altos y medios tienden a comprar en tortillerías comunes, ya que están dispuestos a pagar el costo adicional por tortillas elaboradas industrialmente (Espejel-García, 2016).

2.2 Valor nutrimental de la tortilla de maíz

La tortilla de maíz es una de las principales fuentes de energía en la dieta actual de México, destacándose por su alto contenido de nutrientes, incluyendo hidratos de carbono, proteínas, grasas, fibra y vitaminas (Fernández, 2013). Según la Base de Datos Estadísticos Corporativos de

la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO/STAT, 2009), en promedio, un mexicano recibe diariamente del maíz 1022 kcal y 26.3 g de proteína lo que puede representar el 50% de la ingesta diaria de una persona adulta, si se toma como base una dieta de 2000 kcal y 56 g de proteína.

2.3 Proceso de elaboración

Para el proceso de elaboración de la tortilla de maíz se pueden llevar a cabo mediante dos métodos principales: tradicional e industrial (Rooney y Serna, 2016). En la Figura 1 se presenta el método tradicional, el cual utiliza ingredientes alcalinos en un proceso conocido como nixtamalización (Cuevas-Martínez, 2010). Este proceso consiste en cocer el maíz deshidratado en agua (de 2 a 3 L por kg de maíz) con hidróxido de calcio (Ca(OH)_2) en una concentración del 0.1 a 2%. La cocción se realiza a una temperatura de 80 a 100°C durante un tiempo de 0.5-3 h. Posteriormente, el maíz se deja reposar de 8 a 24 h a temperatura ambiente, tras lo cual se lava para remover los residuos de pericarpio y cal. Finalmente, el maíz es molido en un molino de piedras estriadas para producir la masa con la que se preparan las tortillas (Gasca-Mancera, 2007).

Por otro lado, el método industrial es un proceso automatizado (Valenzuela, 2019). Este utiliza harinas de maíz nixtamalizadas industrialmente (Billeb de Sinibaldi, 2001). El procedimiento incluye un tratamiento inicial del maíz con una solución alcalina, seguido de cocción y reposo. Posteriormente, el maíz tratado se lava con agua a presión para eliminar el pericarpio, se seca y se pulveriza. En la etapa final, se mezcla una fracción de harina de maíz comercial con una fracción de nixtamal, y esta mezcla se alimenta en equipos especializados para producir tortillas de maíz listas para el consumo (Vinces Guillen, 2020).

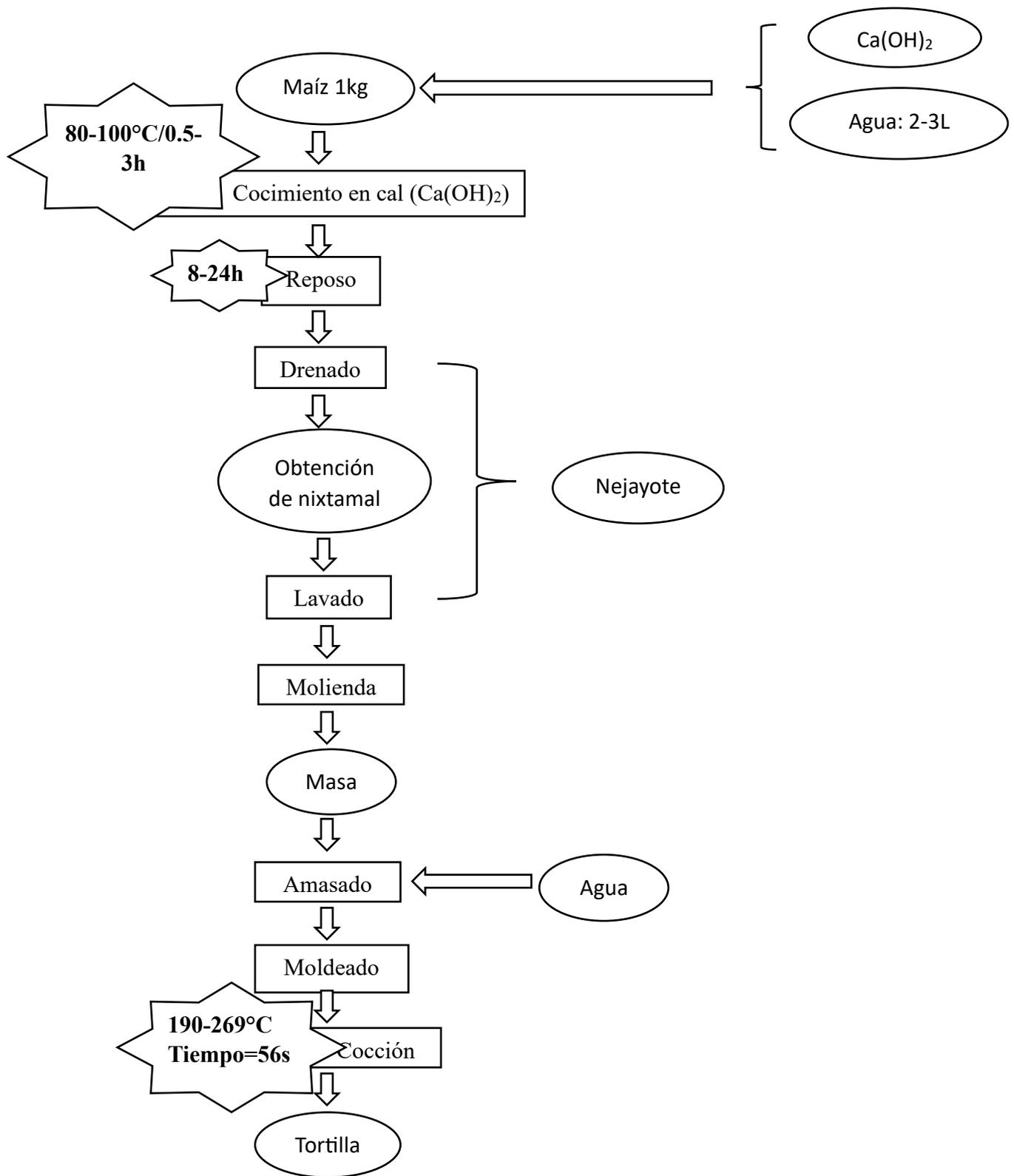


Figura 1. Procesamiento tradicional para la elaboración de tortilla de maíz. Adaptado de Serna et al., 1993.

Por otra parte, de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-187-SSA1/SCFI-2002 indica que al momento de preparar las tortillas de maíz son necesarios cumplir con ciertas normativas y requerimientos específicos, tanto en el personal de trabajo, instalaciones físicas y sanitarias, proceso, materia prima, servicios, así como también el transporte; esto con la finalidad de llevar a cabo un buen procesamiento y control de sanidad en el alimento. De igual manera, se debe cumplir con ciertas especificaciones microbiológicas de aflatoxinas para la elaboración de todo producto a base de maíz (Cuadro 1), además debe existir un límite máximo de coliformes totales expresado en Unidades Formadoras de Colonias por gramo (UFC/g) (Cuadro 2), con la finalidad de mantener aspectos de salubridad y cuidados rigurosos en el alimento en cuestión.

Cuadro 1. Especificaciones microbiológicas de aflatoxinas en productos a base de maíz

PRODUCTO	Límite máximo (µg/kg)
Masa	12
Tortillas de maíz nixtamalizado	
Tostadas de maíz nixtamalizado	
Harinas de maíz nixtamalizado para preparar tortillas y tostadas	

Fuente: Norma Oficial Mexicana NOM-187-SSA1/SCFI-2002

Cuadro 2. Especificaciones microbiológicas de productos a base de maíz

PRODUCTO	Límite máximo de coliformes totales (UFC/g)
Masa	2000
Tortillas	< 30
Harinas de maíz nixtamalizado para preparar tortillas y tostadas	100
Harinas integrales para preparar tortillas	500

Fuente: Norma Oficial Mexicana NOM-187-SSA1/SCFI-2002

2.4 Formas de almacenamiento

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-187-SSA1/SCFI-2002, los productos elaborados a base del maíz, como las tortillas, deben ser envasados o envueltos en recipientes o materiales sanitarios elaborados con materiales inocuos y resistentes a las distintas etapas del proceso. Estos materiales no deben reaccionar con el producto ni alterar sus características físicas, químicas y sensoriales.

En este mismo sentido, las tortillas de maíz suelen envasarse en diferentes tipos de materiales según el contexto. En las industrias tortilleras de gran escala, se utilizan bolsas de polietileno de alta densidad (PEAD) o papel blanco de grado alimenticio. Este papel, al igual que las tintas de impresión utilizadas, debe cumplir con los estándares de grado alimenticio establecidos en la norma NOM-187-SSA1/SCFI-2002). Además, presenta una alta porosidad y resistencia a la humedad (Valenzuela, 2019).

En el caso de las tortillerías, el producto suele envasarse en bolsas de PEAD, polietileno de baja densidad (PEBD) o papel, generalmente de tipo kraft. Sin embargo, cuando se trata de tortillas caseras, éstas se conservan en servilletas de tela o en recipientes especiales llamados tortilleras.

2.5 Propiedades fisicoquímicas

Las características fisicoquímicas de la tortilla, así como el tipo de procesamiento, envasado y almacenamiento, influyen en el crecimiento de microorganismos presentes, lo que provoca una vida útil limitada en anaquel (Martínez-Flores et al., 2004). El contenido de humedad de la masa es un factor importante, el óptimo para producir tortillas de alta calidad y un buen incremento en vida de anaquel, se obtienen cuando la masa tiene de 50 a 55% de humedad (Luna, 2017). Una característica importante en la calidad de la tortilla de maíz es que el pericarpio sea fácilmente removible (Paredes López, 2010).

La calidad de la tortilla está estrechamente relacionada con las propiedades reológicas y textura de la masa. Entre estas propiedades destacan la rollabilidad o flexibilidad, firmeza, pegajosidad, color y vida de anaquel. En el procesamiento de nixtamalización tradicional, un incremento en las propiedades viscoelásticas de la masa se refleja en valores de dureza menor y una mayor flexibilidad de las tortillas (Enríquez, 2019).

La textura de la masa es crítica para el proceso de elaboración de tortilla, ya que una textura adecuada permite que la masa sea lo suficientemente adhesiva para adherirse ligeramente a los rodillos de la máquina y separarse con facilidad. Por el contrario, un maíz con un alto grado de cocción genera una masa excesivamente pegajosa que se adhiere a los rodillos (Gasca Mancera, 2007), mientras que un bajo grado de cocción produce una masa poco cohesiva y de baja calidad para elaborar tortillas (Ramírez- Wong et al., 1993). Los principales factores que afectan la textura de la masa y de la tortilla incluyen la temperatura, el tiempo de cocimiento del maíz y la concentración de cal (Vásquez Lara, 1995). Asimismo, las variables de procesamiento, como la vida del grano, su resistencia y la variedad de maíz, pueden influir en el contenido nutrimental, la actividad microbiológica y los atributos sensoriales del producto final, como aroma, sabor y color del producto (Enríquez, 2019).

Es relevante destacar que las propiedades físicas son uno de los factores que pueden contribuir significativamente al deterioro de la tortilla de maíz, por esta razón es muy importante llevar a cabo un manejo cuidadoso en dichas propiedades para garantizar la calidad y durabilidad del producto.

2.6 Causas de deterioro de la tortilla de maíz

La tortilla de maíz es una fuente rica en nutrientes (proteínas, lípidos, carbohidratos, etc.); éstos pueden favorecer el crecimiento de microorganismos, ya que pueden utilizarlos como sustrato para su desarrollo (De la Rosa-Millán, 2023).

Los factores más destacados que causan deterioro y, por ende, la susceptibilidad a daños microbianos en la tortilla de maíz son su alto contenido de humedad (alrededor del 45-50%), alta actividad acuosa (0.94 a 0.98) y el desarrollo de microorganismos (Valenzuela, 2019). Por esta razón, suelen consumirse el mismo día de su producción, ya que después de 48 h de almacenamiento a temperatura ambiente, comienzan a desarrollarse mohos y levaduras (Martínez-Flores, 2004). Asimismo, la luz, el incremento de la temperatura y la presencia de oxígeno son otras de las causas por las cuales aumentan la velocidad de las reacciones de oxidación de las grasas, comúnmente conocido como rancidez, lo que generan olores y sabores desagradables en la tortilla de maíz, a la vez que de igual forma experimentan cambios en cuanto a la velocidad de crecimiento de bacterias mesófilas aerobias.

De acuerdo a diversos estudios realizados, se ha reportado la identificación de una gama de microorganismos relacionados al deterioro de la tortilla de maíz, entre ellos se encuentran bacterias como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*; además de algunos tipos de hongos como *Aspergillus niger* y *A. flavus*, que producen principalmente aflatoxinas y micotoxinas (Flores-Chávez et al., 2002; Martínez-Padrón et al., 2013). Los microorganismos mencionados previamente empiezan a proliferar en la tortilla de maíz a partir de las 8 h posteriores a su fabricación en condiciones normales de almacenamiento (25-30 °C); sin embargo, en otros estudios indican que la proliferación de microorganismos se inicia 3 h después de su fabricación (Martínez-Flores, 2004).

Por consiguiente, el desarrollo de microorganismos en la tortilla limita considerablemente su vida útil, por lo que es necesario utilizar conservadores que incrementen notablemente su duración en el anaquel. Además, se puede considerar el uso de agentes antimicrobianos de origen natural para evitar el crecimiento de estos microorganismos y mantener la calidad del alimento durante un periodo de tiempo más prolongado.

2.7 Uso de conservadores en la tortilla de maíz para incrementar la vida de anaquel

El medio más económico y rentable para aumentar la vida útil de la tortilla es su almacenamiento a un pH alcalino (mayor a 9). Sin embargo, su incorporación genera propiedades indeseables en la tortilla de maíz, tales como un color amarillo intenso y un sabor amargo, propiedades características de la cal (Téllez-Girón A., 1988).

Uno de los primeros estudios realizados sobre la incorporación de conservadores para aumentar la vida de anaquel en las tortillas de maíz fueron desarrollados por Rubio (1975), quien utilizó una gran variedad de sustancias como la epíclorohidrina, ácido policarboxílico y sus anhídridos, geles hidrofílicos inorgánicos, ésteres de ácidos parahidroxibenzoicos y ácidos ascórbicos y sus sales, y ácidos acético y propiónico; sin embargo, las dosis utilizadas excedieron los límites autorizados por la U.S. Food and Drug Administration (FDA) (Martínez-Flores et al., 2004).

En la industria alimentaria, así como en aquellas enfocadas a la producción de tortillas, suelen utilizar diversos conservadores basados en ácidos orgánicos, por lo que son más efectivos en su forma disociada. Los conservadores son utilizados considerando el pH del producto final (Araujo, 2019). Cabe señalar que el propionato de sodio es uno de los conservadores más

utilizados, sin embargo, existen otros conservadores que son utilizados en las industrias de alimentos, como se muestra en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Propiedades de los conservadores comúnmente empleados en la industria alimentaria

Conservador	Efecto contra			pH efectivo	Soluble en agua	Vía de eliminación
	Hongos	Levaduras	Bacterias			
Propionato de sodio o calcio (ácido propiónico)	X		X	4.9	X	Orina
Sorbato de potasio (ácido sórbico)	X	X		4.8	X	Orina
Diacetato de sodio (ácido acético)	X		X	4.8	X	Orina
Benzoato de sodio (ácido benzoico)	X	X		4.2	X	Orina
Metil o propil parabeno	X	X	X	4 a 9		Orina

Fuente: Adaptado de Weber (2008).

Algunos estudios realizados con harina de maíz nixtamalizada sugieren que los niveles máximos para incorporar sorbato de potasio como conservador varían entre 0.01% y 0.3% en peso. Por otro lado, se recomienda que el propionato de calcio se utilice a un nivel máximo de 0.32% (Ordaz-Ortíz y Vázquez-Carrillo, 1997).

Es relevante destacar que la incorporación de estos conservadores puede alterar el sabor y la textura de las tortillas; para ello se hacen uso de aditivos alimentarios para mejorar las características propias del alimento en cuestión. Además, su uso está regulado por la Norma Oficial Mexicana NOM-187-SSA1/SCFI-2002 (Valenzuela, 2019).

2.8 Nuevas alternativas para incrementar la vida de anaquel en la tortilla de maíz

Como ya se había mencionado anteriormente, el consumo prolongado y constante de alimentos que contienen conservadores orgánicos (entre ellos la tortilla de maíz) tienen efectos perjudiciales a la salud humana, tales como obesidad, diabetes, entre otras enfermedades (Rodas, 2013).

Una fuente interesante de productos conservadores pueden ser las plantas, ya que pueden aprovecharse mediante el uso de sus extractos ricos en compuestos bioactivos con propiedades antimicrobianas y antioxidantes. Recientemente, las plantas de zonas áridas y semiáridas de México han recibido especial atención debido a que las condiciones medioambientales en las que crecen favorecen la producción de compuestos con una amplia variedad de funciones.

Es aquí donde surge el interés de investigar, desarrollar y aplicar un conservador de alimentos de origen natural que sea seguro, eficiente y económico (Meléndez Pastrana, 2021).

2.9 Potencial bioactivo de plantas de zonas áridas y semiáridas de México

Las zonas áridas y semiáridas de México (Figura 2) representan el 63% de la superficie nacional. Específicamente en la región Centro-Norte del país las precipitaciones son limitadas (Aguilar-Galaviz, 2024). El estado de Coahuila posee una extensa zona semidesértica que alberga más de mil especies botánicas, incluyendo recursos forestales no maderables de gran importancia ambiental, social, económica y científica; las plantas ubicadas en estas zonas semidesérticas son capaces de resistir condiciones ambientales extremas gracias a su intrincado metabolismo que producen compuestos que favorecen su supervivencia (Salas-Valdez, 2023). Los metabolitos secundarios juegan un papel muy importante en la adaptación de las plantas ante el estrés ambiental y en la defensa frente a potenciales depredadores y patógenos (organismos que causan enfermedades). Las plantas producen y liberan estos metabolitos cuando se encuentran en condiciones de estrés, ocasionadas por otros organismos vivos, factores no vivos o por desastres naturales (Lustre Sánchez, 2022). Lo anterior indica que los compuestos bioactivos no cumplen funciones metabólicas directas en las plantas, por lo tanto, se pueden aprovechar para una amplia gama de campos de estudio e investigación, tales como medicina, agricultura, industria de alimentos, cosmética, entre otros, sin ocasionar daño alguno a la planta.

En México destacan tres principales regiones áridas: el desierto de Vizcaino ubicado en Baja California; el desierto de Sonora; y el desierto de Chihuahua, siendo este último el de mayor extensión territorial en tierras mexicanas (Salas-Valdez, 2023), como se muestra en la Figura 2.



Figura 2. Zonas áridas y semiáridas de México. CONABIO (2016).

Una de las plantas con gran interés en las áreas de investigación es *E. texana*, un arbusto que predomina en zonas del semidesierto del estado de Coahuila.

2.10 *Eysenhardtia texana*

También conocido como “Palo dulce” o “Riñonera de Texas”, se trata de un arbusto perteneciente a la familia Fabaceae. Suele medir entre 2 y 3 m de altura, las hojas miden entre 3 y 9 cm de largo y tienen entre 15 y 47 folíolos, en su mayoría de 5 a 15 mm de largo (Corell y Johnston, 1970, Vines, 1960), de igual forma presenta inflorescencias en racimos puntiagudos lobulados con corola blanca (Figura 3) (García-Campoy et al., 2020).



Figura 3. Arbusto de *E. texana* con inflorescencias.

2.10.1 Clasificación taxonómica

De acuerdo a una colecta realizada en Terrell, Texas, Estados Unidos, a una altitud de 750 m por el Departamento de Botánica del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (IBUNAM) en 2019, la clasificación taxonómica de *E. texana* es la que se muestra en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Clasificación taxonómica de acuerdo al Departamento de Botánica de la UNAM.

REINO:	PLANTAE
PHYLUM/DIVISIÓN:	Tracheophyta
CLASE:	Magnoliopsida
ORDEN:	Fabaceae
FAMILIA:	Leguminosae
GÉNERO:	<i>Eysenhardtia</i>
ESPECIE:	<i>Eysenhardtia texana</i>

2.10.2 Distribución

E. texana crece en los suelos altos y calcáreos del sur-centro de Texas (Wächter *et al.*, 1999), al igual que suelen encontrarse en abundancia en las zonas norte de México como son: Coahuila, Nuevo León, Durango, Chihuahua, Tamaulipas, Sinaloa, Sonora, zonas centro como Guanajuato, Colima, San Luis Potosí, Hidalgo, Jalisco, Querétaro y Zacatecas (Figura 4) (García-Campoy *et al.*, 2020).

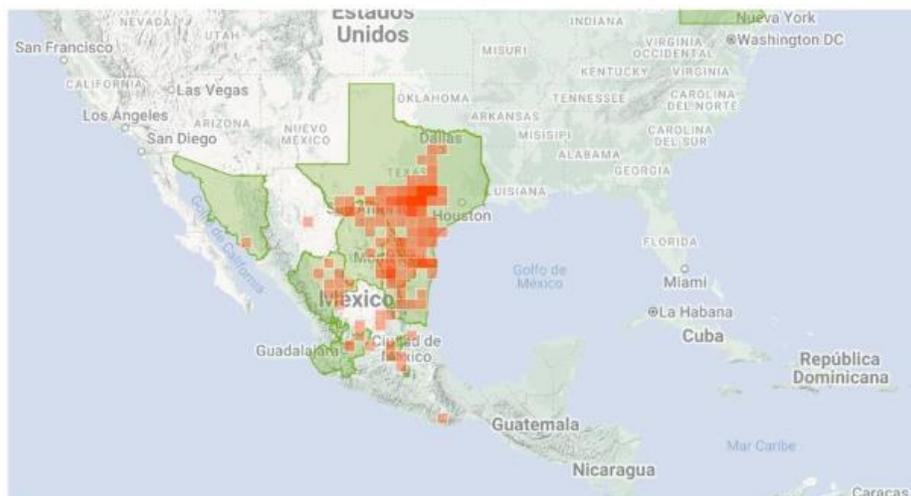


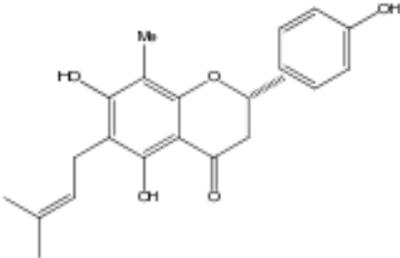
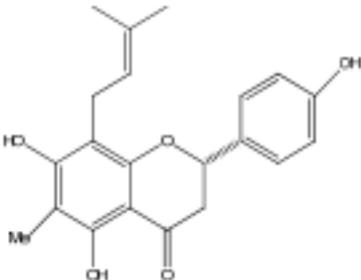
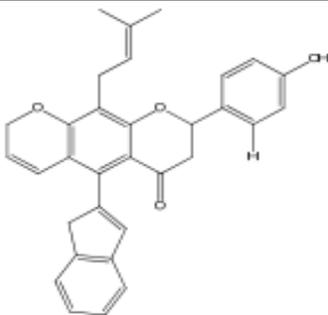
Figura 4. Distribución geográfica de *E. texana*.

Fuente: Naturalista (2023).

2.10.3 Composición química y potencial bioactivo

Actualmente, los estudios de identificación de compuestos específicos en la especie de *E. texana* son limitadas; sin embargo, se han encontrado ciertas fuentes en el que se reporta la composición de extractos de hojas en *E. texana* usando como solvente metanol-diclorometano (Cuadro 5) (Wächter *et al.*, 1999).

Cuadro 5: Compuestos reportados en un extracto con metanol-diclorometano a partir de hojas de *E. texana*.

Compuesto químico	Estructura química
<p>4,5,7-Trihidroxi-8-metil-6-(3-metil-[2butenil])-(2S)flavanona (1)</p>	
<p>4,5,7-Trihidroxi-8-metil-6-(3-metil-[2butenil])-(2S)flavanona (2)</p>	
<p>4,5-dihidroxi-7-metoxi-6-(3-metil-[2-butenil])-(2S)-flavanona (3)</p>	

Adaptado de Wächter et al. (1999).

Por otra parte, varios autores han realizado estudios fitoquímicos en *E. texana* para diversos fines, dándole un enfoque principalmente en los ámbitos agrícolas, medicina y alimentos. Estos estudios son cruciales, ya que sirven como base para continuar realizando ensayos con una variedad de solventes para obtener extracciones. De esta manera, se pueden extraer una infinidad de compuestos bioactivos que permitirán investigar y dar un enfoque más preciso a distintas áreas de estudio. Una gran ventaja de esta planta es su capacidad para producir compuestos bioactivos a través de su metabolismo secundario, debido a las condiciones adversas en las zonas semidesérticas de México.

La presente investigación es el primer estudio enfocado en la incorporación de extractos bioactivos de *E. texana* como conservantes en tortillas de maíz. Este trabajo propone evaluar el efecto de estos extractos en la vida de las tortillas, utilizando principalmente Disolventes Eutécticos Profundos (DEP) como agentes de extracción. Con ello, se busca desarrollar soluciones innovadoras y sustentables para la industria alimentaria que prolonguen la frescura del producto, al mismo tiempo que brinden alternativas naturales y beneficiosas para la salud del consumidor.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Fermentaciones y Biomoléculas (LFB) del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos (DCTA) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) en Saltillo, Coahuila, México. Además, se realizó una estancia corta en la empresa LAPISA BIOCAMPO S.A. de C.V. ubicado en Arteaga, Coahuila, para llevar a cabo algunos ensayos de la investigación. Este trabajo de tesis consta de tres etapas que se enuncian a continuación: I) Obtención y caracterización fisicoquímica de extractos de *E. texana* empleando solventes convencionales y disolventes eutécticos profundos; II) Evaluación y comparación de las propiedades bioactivas de extractos de *E. texana* obtenidos con solventes convencionales y disolventes eutécticos profundos; y III) Efecto de la incorporación de extractos bioactivos de *E. texana* en la vida de anaquel de tortilla de maíz.

3.1 Reactivos

En la Etapa I se utilizó ácido sulfúrico 0.255 N e hidróxido de sodio 0.313 N para el análisis de fibra cruda, en el análisis de proteína se utilizaron los reactivos: ácido bórico 2.2% (p/v), ácido sulfúrico 0.025 N, además de un indicador mixto de Fermon (México), hidróxido de sodio 50%; así mismo en los análisis de grasas se utilizó como solvente éter de petróleo (Biopack). En la determinación de azúcares totales se utilizó ácido sulfúrico concentrado y fenol 5%; en la determinación de azúcares reductores se utilizó el reactivo 3,5-Ácido DinitroSalicílico (DNS) (Sigma-aldrich, EUA), cuyos componentes son tartrato de sodio (Jalmek, México), sulfito de sodio (Jalmek, México), hidróxido de sodio (Analytyka, México), glucosa (SIGMA, EUA). Además, se utilizaron los reactivos ácido cítrico (Jalmek, México), glicerol (Jalmek, México), acetato de sodio (Fermont, México), ácido láctico (Jalmek, México), glucosa, ácido acético (Jalmek, México) y cloruro de colina como solventes para la extracción de compuestos bioactivos. En la Etapa II, para determinar el contenido de fenoles totales se utilizó el reactivo Folin-Ciocalteu (FC) (Merk, Suiza), carbonato de sodio y ácido gálico de Sigma (Japón); para flavonoides totales se utilizó nitrito de sodio, cloruro de aluminio, hidróxido de sodio y quercetina (Spectrum, EUA); en actividad antioxidante fueron por dos técnicas: mediante captador de radicales de hidrógeno, se empleó el reactivo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), mientras que en la técnica inhibición del radical catiónico ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) se utilizó precisamente dicho reactivo marca Sigma (Japón), persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$),; para el estándar se utilizó el reactivo Trolox (Sigma, EUA). Asimismo, se empleó Agar Papa Dextrosa (PDA), una cepa de

Aspergillus niger proporcionada por el LFB y Caldo Papa Dextrosa (PDB) para ensayos de actividad antifúngica. La mayoría de los reactivos utilizados en el presente trabajo de investigación fueron diluidos en agua y etanol absoluto al 99.9%. Los reactivos utilizados son de grado analítico.

ETAPA I. Obtención y caracterización fisicoquímica de extractos de *E. texana* empleando solventes convencionales y disolventes eutécticos profundos

3.2 Obtención de materia prima

La colecta de dos órganos de *E. texana* (hojas y ramas) se desarrolló en el mes de junio de 2023, cuya zona se encuentra ubicado en la Presa Palo Blanco, sobre la carretera antigua Saltillo-Monclova, Ramos Arizpe, Coahuila, México, cuyas coordenadas son: 25°34'34.7''N 101°04'47.3''W (Figura 5).

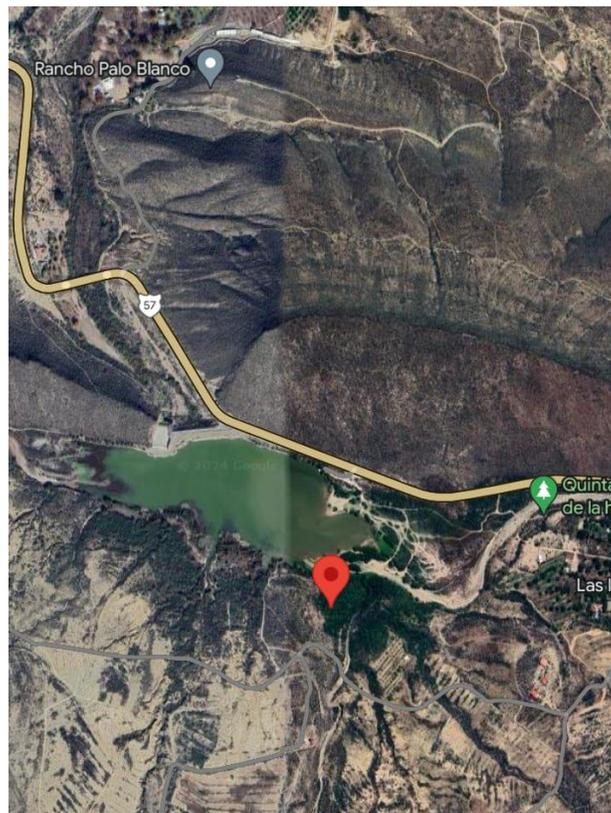


Figura 5. Localización geográfica del muestreo de hojas y ramas de *E. texana*.

Las muestras de hojas y ramas fueron colectadas y transportadas al LFB del DCTA de la UAAAN, en el cual se separaron las hojas y ramas en depósitos diferentes; posteriormente, se dejaron secar a temperatura ambiente hasta conseguir un peso constante. Después, las hojas y ramas fueron trituradas a velocidad baja en una licuadora marca Osterizer (EUA). Posterior a ello, se procedió a efectuar una depuración mediante una malla del número 20 y fueron almacenados a temperatura ambiente en condiciones de obscuridad hasta su uso (Figura 6).



Figura 6. Tamizaje de la materia prima en hojas (a) y ramas (b).

3.2.1 Caracterización fisicoquímica

Los análisis de caracterización fisicoquímica de hojas y ramas de *E. texana* se realizaron mediante las metodologías propuestas por el Método Oficial de Análisis (AOAC, 1990). Para la determinación de estos análisis se pesaron 1 g de muestra. La obtención del contenido de humedad fue por gravimetría en una estufa (BioBase, modelo BOV-T70C, China) a 60°C. El contenido de cenizas se evaluó por incineración en una mufla (Probiotek) a 600°C. La determinación de grasas (extracto etéreo) se realizó por gravimetría mediante el método Soxhlet. El nivel de proteína cruda se efectuó por el método microKjendahl con un factor de conversión de 6.25. Asimismo, se determinó el contenido de fibra total por medio de diluciones ácidas y alcalinas (Figura 7). Todas las pruebas se realizaron por triplicado.

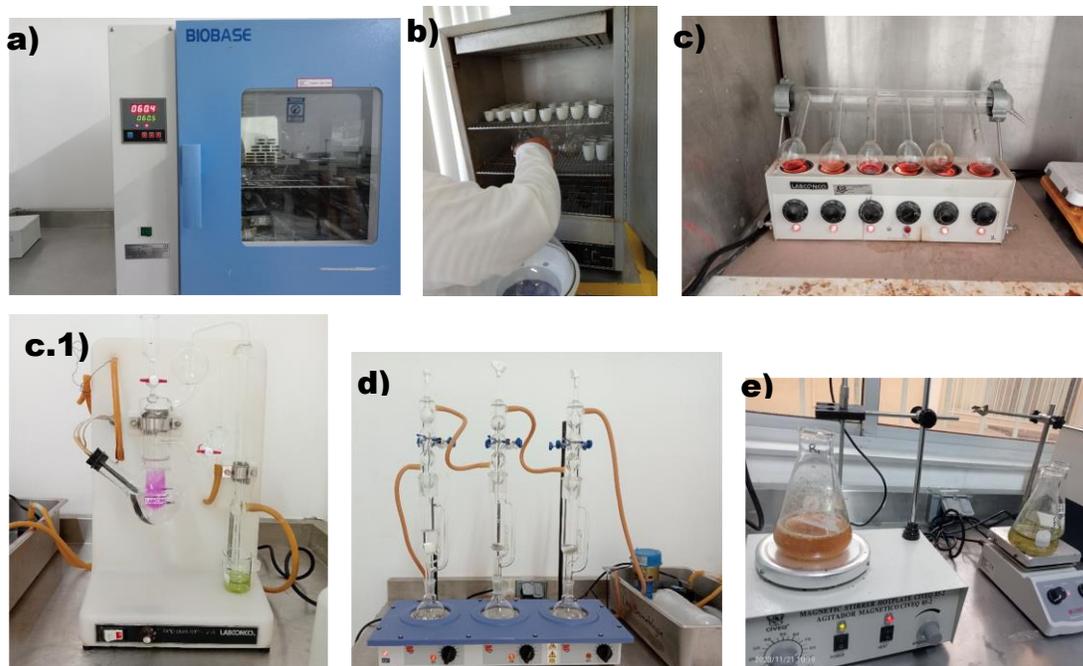


Figura 7. a) Humedad, b) Cenizas, c) Digestión de proteína, c.1) Proteína en microKjendahl, d) Grasas, e) Fibra cruda.

3.2.2 Azúcares totales y reductores

La cuantificación de azúcares totales se ejecutó mediante la metodología propuesta por DuBois et al. (1956), la cual se basa en la técnica colorimétrica. La determinación de azúcares reductores se determinó siguiendo la metodología sugerida por Miller (1959). Para la cuantificación de ambos análisis, primero se realizó el pesaje de 1 g de materia prima en 40 mL de agua destilada y, posteriormente, se filtró en bomba de vacío. Posterior a ello, se procedió con la metodología para la cuantificación de azúcares totales por el método fenol- sulfúrico, realizando una dilución 1:10 de la muestra filtrada (1 mL con 9 mL de agua destilada), se agregaron 400 μ L de la dilución a otro tubo de ensayo con 400 μ L de fenol 5% (p/v), se dejó reposar durante 5 min en baño con hielo, después se añadieron 1000 μ L de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado. Una vez terminado el tiempo se llevó a baño maría por 5 min; finalmente, se colocaron las muestras en placas ELISA de 96 pocillos y se midió la absorbancia en un lector de microplacas (BIOBASE-EL 10A, Jinan, SHG, China) a una longitud de onda de 470 nm.

La medición de azúcares reductores se realizó mediante el método DNS. Para esto se mezcló 1 mL de muestra previamente filtrada con 1 mL de reactivo DNS previamente preparado. La mezcla se hirvió durante 5 min y luego se enfrió en un baño de agua durante otros 5 min. Luego

se agregaron 5 mL de agua destilada a cada tubo. Finalmente, las muestras fueron transferidas a una placa ELISA y analizadas en un lector de microplacas a una longitud de onda de 540 nm.

El contenido de azúcares totales y reductores se reportó como miligramos de equivalentes de glucosa por gramo de muestra (mg EG/g muestra), utilizando una solución estándar de glucosa a 500 mg/L para azúcares totales y 1000 mg/L para azúcares reductores. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

3.3 Contenido de Fenoles Totales (CFT) de la materia prima

El CFT se determinó mediante la técnica colorimétrica por el método FC adaptado a microplaca, sugerida por Müller et al. (2010). La materia prima de hojas y ramas de *E. texana* se disolvió, pesando 1 g de muestra en 40 mL de agua destilada. Posteriormente, se realizaron diluciones 1:20 a las muestras previamente filtradas. Se tomaron 20 μ L de cada extracto obtenido, con la dilución correspondiente y se mezclaron con 100 μ L de una solución diluida del reactivo de FC (1:10, v/v en agua destilada) en microplaca de 96 pocillos, el cual se agitó suavemente y se dejó reaccionar por 5 min. Pasado este tiempo, se añadieron 75 μ L de Na_2CO_3 (7.5 %, p/v en agua destilada), y se agitó suavemente, finalmente se dejó incubar por 45 min bajo condiciones de oscuridad. Posteriormente, se realizó la lectura de absorbancias a una longitud de onda de 750 nm en un lector de microplacas y se registraron las absorbancias (Figura 8). El CFT se reportó utilizando como referencia una curva de ácido gálico (AG, 200 mg/L) y se expresó como miligramos de equivalentes de AG por gramo de muestra (mg EAG/g muestra). Las determinaciones se realizaron por triplicado.



Figura 8. A) Pesaje de muestras (hojas y ramas), B) Filtro de muestras, C) Obtención de muestras filtradas.

3.4 Obtención de extractos de *E. texana* empleando solventes convencionales y disolventes eutécticos profundos

El método de extracción de compuestos bioactivos empleado fue mediante agitación convencional, empleando el equipo Shaker (Eppendorf™, modelo: Innova 44R, US, Fisher Scientific) a condiciones de temperatura de 50°C por un tiempo de 2 h a 150 rpm.

3.4.1 Obtención de extractos de *E. texana* empleando solventes convencionales

Para la obtención de extractos, se siguió la metodología empleada por Jasso de Rodríguez et al. (2017) con ciertas adaptaciones. Los solventes convencionales utilizados fueron Etanol-Agua (1:1), agua y etanol absoluto, etiquetadas como E-A, A y E, respectivamente. Se pesaron 1.9 g de muestra (hojas y ramas) en 21 mL del respectivo solvente, se colocaron en matraces Erlenmeyer de 250 mL cubiertas con aluminio, y posteriormente, se depositaron en el equipo Shaker a las condiciones descritas previamente (Figura 9). Una vez finalizado el tiempo requerido para la extracción se colocaron en tubos Falcón de 15 mL y se centrifugaron a 4000 rpm durante 10 min y se obtuvieron los extractos (Figura 10).

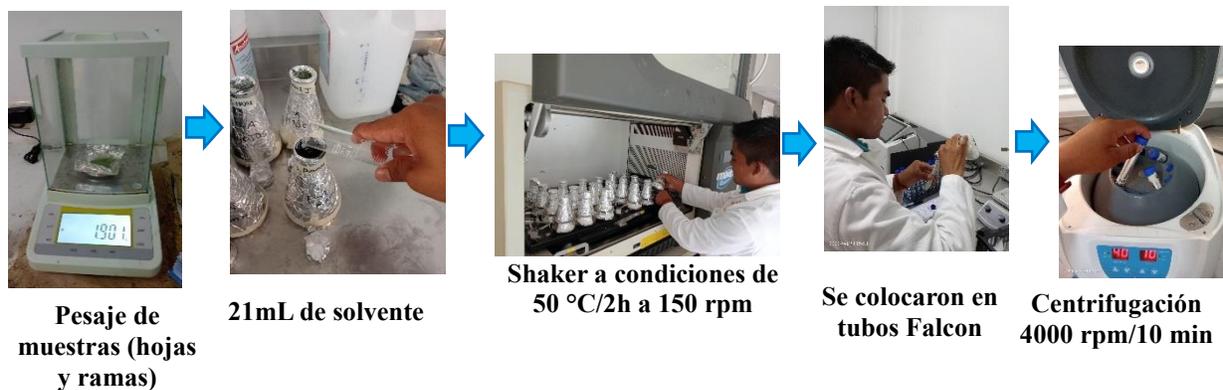


Figura 9. Pasos consecutivos para la extracción con solventes convencionales.

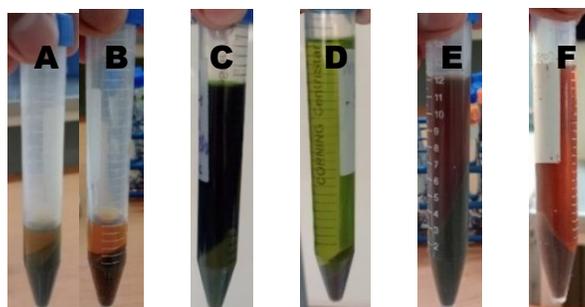


Figura 10. Extractos obtenidos de hojas y ramas. A) E-A; Hojas, B) E-A; Ramas, C) E; Hojas, D) E; Ramas, E) A; Hojas, F) A; Ramas.

3.4.2 Preparación de disolventes eutécticos profundos (DEP) y su empleo para la obtención de extractos de *E. texana*

El modo de preparación para obtener los DEP se realizó siguiendo la metodología sugerida por Smink et al. (2020). Para la obtención de los DEP es necesario que se mezclen dos o más compuestos químicos con propiedades diferentes (un aceptor de protones y un donador de protones, HBA y HBD, por sus siglas en inglés, respectivamente). En este caso, se obtuvieron diferentes DEP para los cuales la relación molar aplicada a cada uno fueron consultados en diferentes fuentes, de acuerdo al Cuadro 6. Para la preparación de los DEP se procedió a calentar y agitar la mezcla eutéctica a 500 rpm en 70°C por 1 h (Figura 11).

Cuadro 6. DEP empleados para la obtención de extractos a diferentes relaciones molares, de acuerdo a diferentes fuentes consultadas.

DEP	Compuestos químicos (HBA+HBD) y peso molecular	Relación molar	Fuente
DEP1	Ácido cítrico (192.12g/mol) + Glicerol (92.09 g/mol)	4:1	Bozinou et al., 2022.
DEP2	Acetato de sodio (82.03 g/mol) + Glicerol	4:1	Bozinou et al., 2022.
DEP3	Ácido láctico (90.01g/mol) + D-Glucosa (180.156g/mol) + Agua (18 g/mol)	6:1:6	Liew et al., 2018.
DEP4	Ácido láctico+ Acetato de sodio+ Agua	3:1:2	Santos-Martín et al., 2023.

DEP5 | Ácido acético (60.05 g/mol) + Cloruro de 1:1:10 Hernández-Corroto, E. et
colina (139.63 g/mol) + Agua al., 2020.

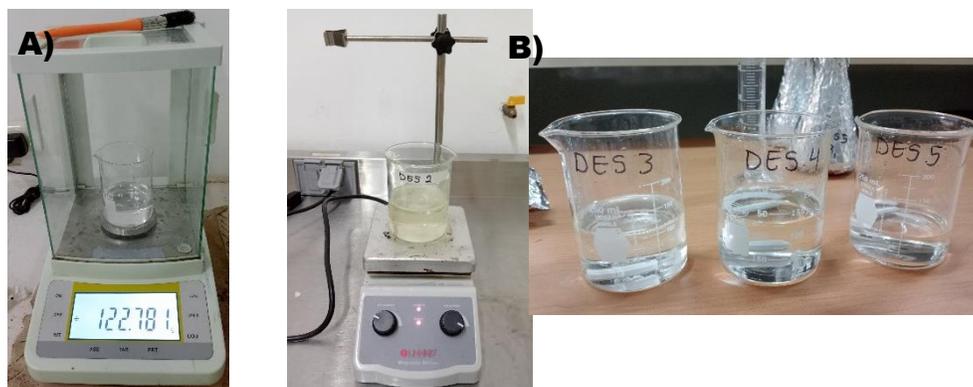


Figura 11. A) Pesaje de cada compuesto químico, B) Obtención de los DEP previa agitación y calentamiento.

Una vez obtenidos los DEP, de igual manera (como en el caso de solventes convencionales), se pesaron 1.9 g de muestra con 21 mL de la mezcla eutéctica; se depositaron en matraces Erlenmeyer cubiertos con aluminio y se llevaron al Shaker (150 rpm a 50°C /2 h). Posteriormente, se procedió a centrifugar la muestra a 4000 rpm por 10 min para, finalmente, obtener los extractos con DEP (Figura 12).



Figura 12. Extractos obtenidos a partir de DEP.

Los extractos obtenidos, tanto convencionales como DEP, fueron almacenados en refrigeración, cubiertos con aluminio para evitar la pérdida de bioactividad.

3.5 Azúcares totales y reductores

Se determinó el contenido de azúcares totales y reductores de los extractos obtenidos (en hojas y ramas), tanto de los solventes convencionales y DEP siguiendo la misma metodología descrita en el apartado 3.2.2 (Figura 13).

La cuantificación de azúcares totales y reductores se reportaron como miligramos de equivalentes de glucosa por gramo de muestra (mg EG/g muestra), utilizando un estándar de glucosa a 500 mg/L para azucares totales y 1000 mg/L para azúcares reductores. Las determinaciones se realizaron por triplicado a cada uno de los duplicados de los extractos.

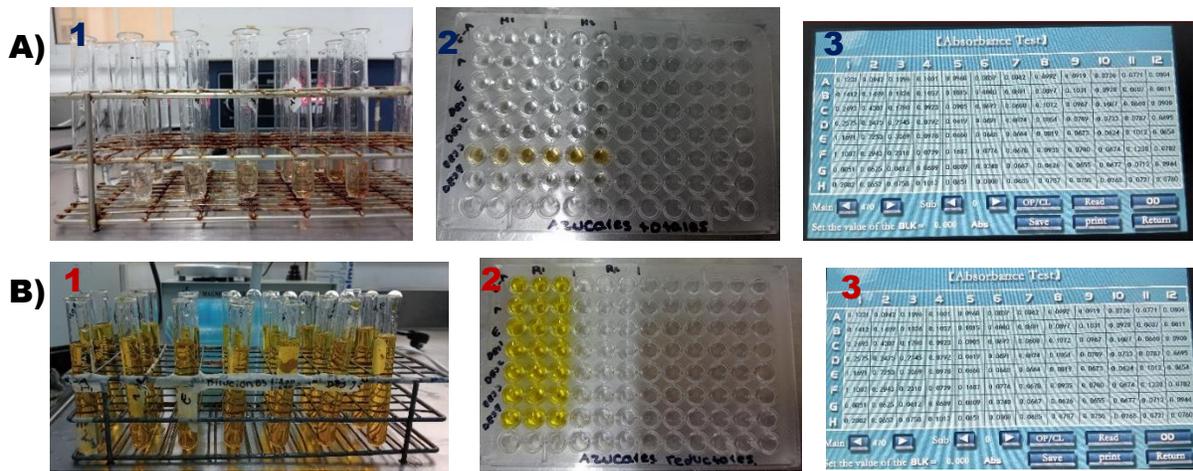


Figura 13. Determinación del contenido de azúcares en extractos de *E. texana* (hojas y ramas).
A) Azúcares totales; **B)** Azúcares reductores.

3.6 Contenido de Fenoles Totales (CFT)

La determinación del CFT se realizó para todos los extractos, siguiendo la misma metodología descrita en el apartado 3.3 (Figura 14).

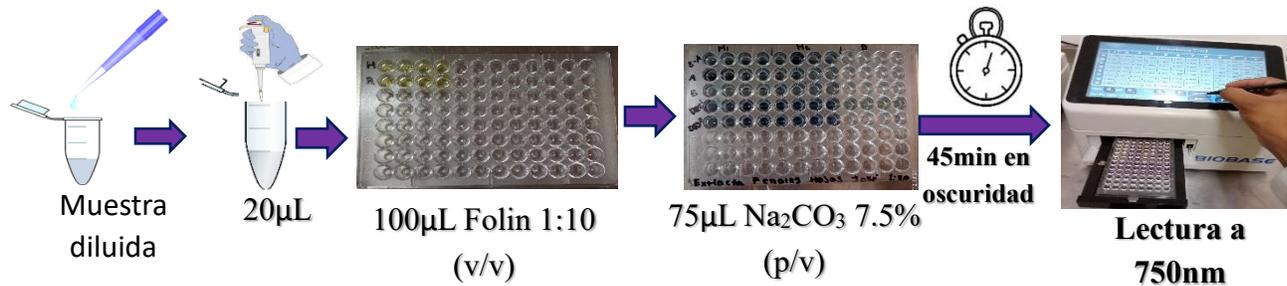


Figura 14. Metodología desarrollada para determinar CFT en extractos de *E. texana*.

3.7 Contenido total de flavonoides (CTF)

El CTF se realizó para todos los extractos obtenidos mediante la técnica colorimétrica adaptado a microplaca, recomendada por Blasa et al. (2006). Se tomaron 50 μL de cada extracto (se realizó previamente una dilución 1:40) y se mezclaron con 15 μL de nitrito de sodio (NaNO_2 5% p/v) en microplaca de 96 pocillos, el cual se agitó suavemente y se dejó reaccionar por 5 min. Después, se añadieron 15 μL de cloruro de aluminio (AlCl_3 10%, p/v) y se agitó suavemente, se dejó incubar por 6 y se agregaron 100 μL de NaOH 1M; finalmente, se dejó reaccionar por 5 min y se leyó la absorbancia a longitud de onda de 510 nm (Figura 15). El CTF se reportó como miligramos de equivalentes de quercetina por gramo de extracto (mg EQE/g muestra), comparando los resultados con una curva de calibración, usando como estándar quercetina a 510 mg/L. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

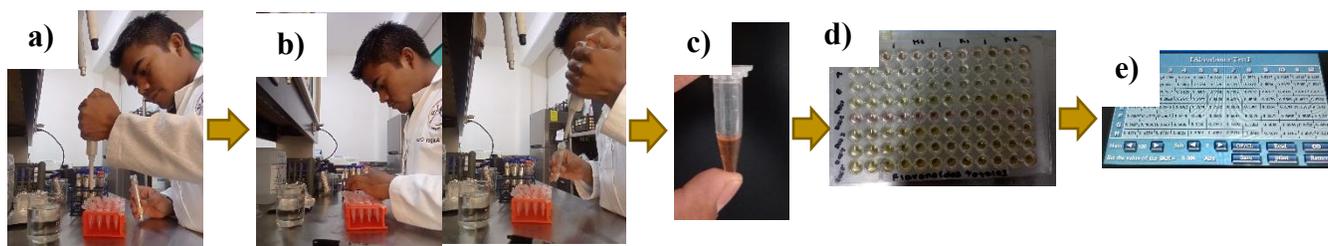


Figura 15. a) Determinación de contenido total de flavonoides en extractos de *E. texana*.

ETAPA II. Evaluación y comparación de las propiedades bioactivas de extractos de *E. texana* obtenidos con solventes convencionales y disolventes eutécticos profundos

3.8 Actividad antioxidante

3.8.1 DPPH

La capacidad de captura de radicales libres de los extractos se determinó mediante el ensayo DPPH siguiendo la metodología adaptada de Charles-Rodríguez et al. (2020). Se tomaron 25 μL de cada extracto diluida (1:10 v/v en agua destilada) y se mezclaron con 200 μL de solución de DPPH (150 μM , disueltos en etanol absoluto) en microplaca de 96 pocillos. La reacción se incubó en condiciones de oscuridad a temperatura ambiente durante 30 min. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 520 nm en un lector de microplacas (Figura 16). Los resultados fueron expresados como miligramos de equivalentes de Trolox por gramo de muestra (mg ET/g

muestra), comparando los resultados con una curva de calibración, usando como estándar Trolox (un compuesto antioxidante), a una concentración de 1000 mg/L. Las determinaciones se realizaron por triplicado.



Figura 16. Determinación de actividad antioxidante por el método de DPPH.

3.8.2 ABTS

La cuantificación de la decoloración del radical ABTS+ por la presencia de antioxidantes en la muestra se determinó mediante la metodología adaptada de Guía-García et al. (2021). Primero se preparó la solución de ABTS a una concentración de 7 mM en agua destilada y se mezcló con una solución de persulfato de potasio (2.45 mM); la mezcla se mantuvo a 4 °C durante 14-16 h en condiciones de oscuridad. Posteriormente, la solución se ajustó con etanol al 20% (v/v) a una absorbancia de 0.700 ± 0.010 a longitud de onda de 750 nm. Seguido de ello, se agregaron 10 μ L de cada extracto diluidos (1:10) a una microplaca de 96 pocillos y se mezclaron con 200 μ L de la solución ABTS, previo ajuste. Las mezclas se mantuvieron durante 10 min en condiciones de oscuridad y luego se midió la absorbancia a 750 nm (Figura 17). Los resultados fueron expresados como miligramos de equivalentes de Trolox por gramo de muestra (mg ET/g muestra),

comparando los resultados con una curva de calibración, usando como estándar Trolox, a una concentración de 1030 mg/L. Las determinaciones se realizaron por triplicado.



Figura 17. Determinación de actividad antioxidante por el método de ABTS.

3.9 Actividad antifúngica *in vitro*

Para evaluar la actividad antifúngica, la cepa de *A. niger* se activó en medio de cultivo PDA y se incubó a 27 ± 2.0 °C durante 7 días en una incubadora (Riossa, modelo E-71, México) (Figura 18). Posteriormente, se preparó una solución de esporas con una concentración de 1×10^4 esporas/mL, siguiendo la metodología sugerida por Flores-López et al. (2016). Para ello, se prepararon 8 mL de una solución de Tween-80 al 0.01%, con la cual se realizó un barrido sobre las colonias de *A. niger*. La mezcla obtenida se filtró a través de una gasa estéril para eliminar restos de biomasa y medio de cultivo, obteniendo una solución de esporas. A continuación, se realizó el conteo de esporas utilizando una cámara de Neubauer (Marienfeld, Alemania) para determinar su concentración en la solución, empleando la Ecuación 1.

$$\text{Esporas/mL} = (\bar{X})(FD)(FC)(25) \quad \text{Ecuación 1}$$

donde: \bar{X} es la media del conteo, FD= factor de dilución, FC= factor de concentración (valor constante=10,000), y 25 corresponde al número total de cuadros de la cámara.

Los tratamientos con extractos se prepararon a concentraciones de 0.1%, 0.25%, 0.5%, 5%, y 20% (v/v), diluidos en caldo papa dextrosa. El ensayo se llevó a cabo en microplacas estériles,

añadiendo 100 μ L de cada tratamiento junto con 100 μ L de la solución de esporas previamente preparada. Se realizaron cinco repeticiones por tratamiento. Como control absoluto, se utilizó caldo papa dextrosa con la solución de esporas sin adición de extractos. Las placas fueron incubadas a 27 ± 2 °C y se evaluó la densidad óptica (DO) a 600 nm durante un periodo de 96 h, realizando lecturas de absorbancia en intervalos de 24 h utilizando un lector de automático de microplacas (BIOBASE-EL 10A, Jinan, SHG, China) (Figura 19). El porcentaje de inhibición del crecimiento (%) se evaluó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Inhibición (\%)} = \frac{DO_{\text{control}} - DO_{\text{muestra}}}{DO_{\text{control}}} \times 100 \quad \text{Ecuación 2}$$

donde, DO_{muestra} corresponde a la densidad óptica de cada tratamiento y DO_{control} se refiere a la densidad óptica del control. Todos los tratamientos se realizaron por triplicado.

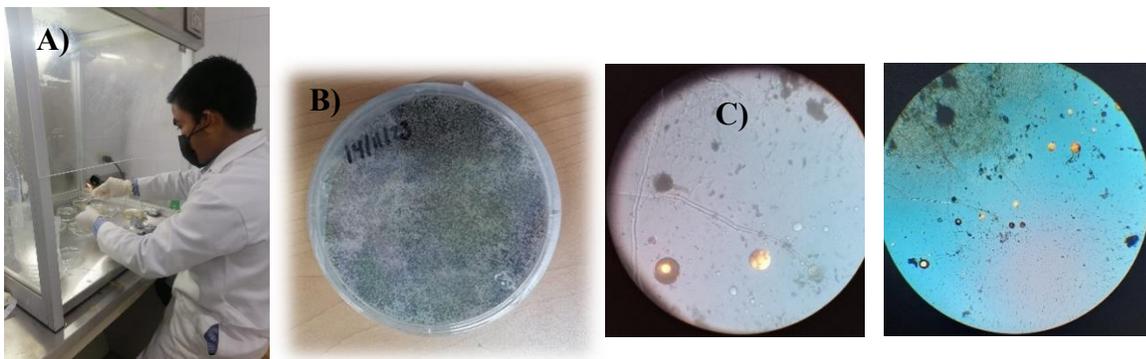


Figura 18. A) Siembra de *A. niger*, B) *A. niger* después de 7 días en incubación, C) Caracterización por microscopía.

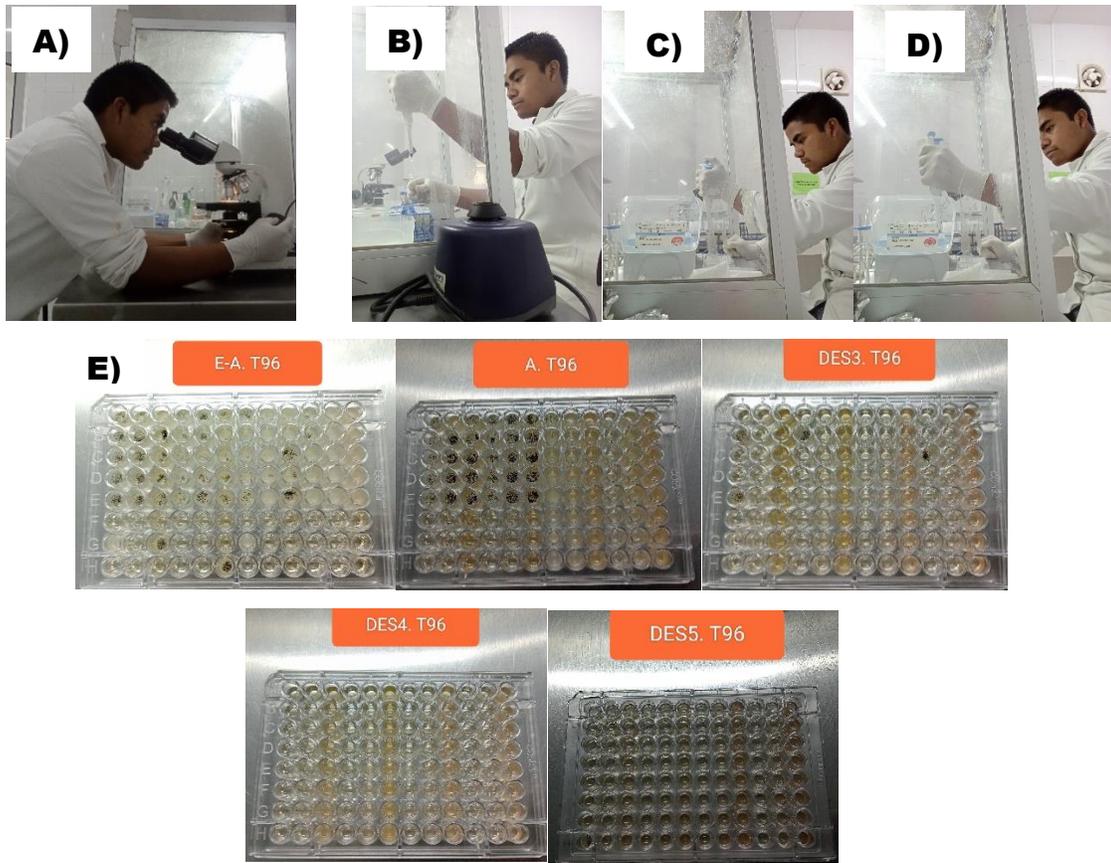


Figura 19. A) Conteo de esporas, B) Preparación de concentraciones, C) Preparación de la solución de esporas, 1×10^4 Esp/mL, D) Montaje en microplaca, E) Crecimiento del hongo a las 96 h.

ETAPA III. Efecto de la incorporación de extractos bioactivos de *E. texana* en la vida de anaquel de tortilla de maíz

3.10 Proceso de nixtamalización

El proceso de elaboración de nixtamal se llevó a cabo siguiendo la metodología sugerida por Sánchez- Sandoval et al. (2018). Se colocó en un recipiente 9 kg de granos de maíz blanco, 27 L de agua con 2% de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, y se calentó a 92 °C por 45 min. Una vez finalizado el tiempo de cocción se retiró del fuego y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 12 h con el fin de ablandar el pericarpio, después se realizó el lavado del maíz. El maíz se trituroó en un molino de piedra y la consistencia adecuada de la masa se obtuvo mezclando con suficiente agua (Figura 20).

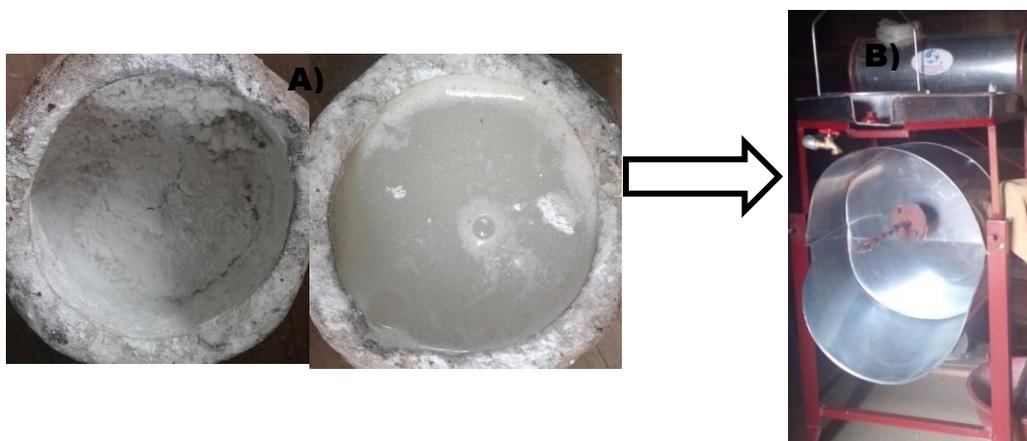


Figura 20. A) Preparación de la solución de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 2% (m/v), B) Trituración del nixtamal en molino de piedra.

3.11 Incorporación de extractos de *E. texana*

Los análisis de actividad antifúngica fueron relevantes para seleccionar los extractos más efectivos en cuanto a actividad inhibitoria contra *A. niger* y proceder a la incorporación en la tortilla de maíz. Se seleccionaron los extractos DEP 4 y DEP 5 debido a su alta concentración de compuestos, además su capacidad de inhibir *A. niger*, un hongo que prolifera en tortillas, además de que no tienen efectos citotóxicos, de acuerdo con diversas fuentes bibliográficas (Carreón- Hidalgo et al., 2024). Los extractos seleccionados, tanto de hojas como de ramas, se adicionaron en dos concentraciones distintas: 0.2% y 0.4%. Estas concentraciones se establecieron conforme a la NOM-187-SSA1/SCFI-2002, que regula productos y servicios como masa, tortillas, tostadas, harinas preparadas y los establecimientos donde se procesan. Esta norma específica que el límite máximo de uno de los componentes del DEP 5 (ácido acético) y DEP 4 (ácido láctico) debe seguir

las buenas prácticas de fabricación (BPF), es decir, utilizar la cantidad mínima necesaria para lograr el efecto deseado. Esto tiene como finalidad evitar alteraciones en las propiedades organolépticas del alimento, como olor, sabor y color.

Asimismo, se prepararon tortillas utilizando un conservador comercial, optando por el benzoato de sodio (Fagalab, México), en cumplimiento con la misma norma, la cual estipula un límite máximo de 1000 mg/kg de masa. Adicionalmente, se incluyeron tortillas como control absoluto, las cuales no contenían ningún tipo de conservador.

3.12 Proceso de elaboración y almacenamiento

El proceso de elaboración de las tortillas de maíz se realizó siguiendo la metodología sugerida por Sánchez Sandoval et al. (2018). Se amasaron durante 3 min (con cada uno de los extractos a las concentraciones propuestas), posteriormente se realizaron testales (bolitas de masa para hacer la tortilla) y se troquelaron en una máquina troqueladora manual (Herrera, México). Las tortillas se sometieron a cocimiento a una temperatura de 200 °C en un comal metálico; 25 s por un lado y 26 s por el otro lado hasta esponjar, lo cual es un indicativo del buen cocimiento de la tortilla y de su calidad (Figura 21). Posteriormente, las tortillas se enfriaron a temperatura ambiente por aproximadamente 10 min, y se empacaron en bolsas de polietileno de baja densidad (PEBD). Se procedió a almacenar a 4 °C durante 15 días en cuarto frío (Figura 22).

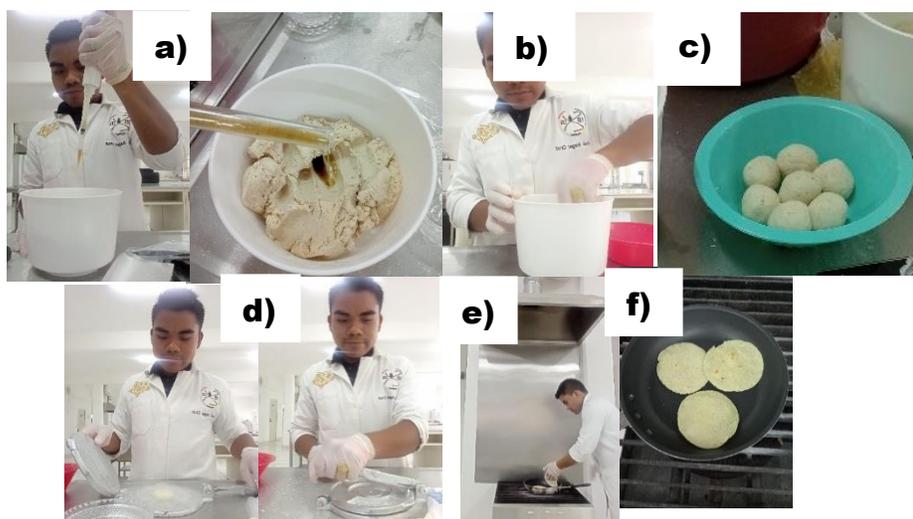


Figura 21. Proceso de elaboración de tortilla de maíz e incorporación de extractos. **a)** Incorporación de extracto a la masa, **b)** amasar/mezclar, **c)** Obtención de testales, **d)** troquelar en troqueladora manual, **e)** Someter a cocimiento, **f)** tortillas listas.



Figura 22. Almacenamiento y empaque. **a)** Enfriamiento a temperatura ambiente por 10 min, **b)** Empacado en bolsas de PEBD, **c)** almacenamiento a 4°C por 15 días.

3.13 Evaluación de parámetros fisicoquímicos

Los análisis fisicoquímicos fueron evaluados cada tercer día durante un período de 15 días. El primer análisis se llevó a cabo el mismo día en que se elaboraron las tortillas. Los parámetros analizados incluyeron: diámetro, espesor, humedad, pH, color y firmeza (Figura 23).

Para evaluar las variables de diámetro, espesor y humedad, se siguió la metodología sugerida por Sánchez-Sandoval et al. (2018). El diámetro de las tortillas se determinó utilizando un vernier (KARLEN, México), calculando el promedio de dos mediciones diagonales por unidad experimental (una tortilla). El espesor se obtuvo midiendo cinco tortillas apiladas y dividiendo el resultado por cinco, utilizando el mismo instrumento. La humedad se determinó pesando 2 g de muestra previamente molida, colocándola en una estufa de secado a 135°C durante 2 h.

Para las variables de pH y color, se empleó la metodología propuesta por Baez-Aguilar et al. (2021). En pH se midió añadiendo 10 g de tortilla a 90 mL de agua destilada; la mezcla se licuó durante 5 min y se analizó con un potenciómetro (OHAUS, EUA). El análisis de color se realizó con un colorímetro en escala CIELAB (L^* , a^* , b^*), utilizando iluminación circunferencial de 45° y ángulo de visión de 0°.

Finalmente, para medir la firmeza, se utilizó un penetrómetro (Extech Instruments, EUA) con una sonda de 11 mm. La sonda se introdujo en tres puntos diferentes (orilla, centro y orilla) de las tortillas, y se calculó el promedio siguiendo la metodología de Ramos Sánchez (2015). Los resultados fueron expresados en Newton (N). Todas las determinaciones se hicieron por triplicado.



Figura 23. Análisis fisicoquímicos. a) diámetro, b) espesor, c) humedad, d) pH, e) color, f) firmeza.

3.14 Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos de la caracterización bromatológica de hoja y rama de *E. texana*, el perfil fitoquímico y actividad antioxidante fueron analizados mediante la prueba de comparación de medias completamente al azar, utilizando el software FAUANL (Olivares, 2015). Se realizó la comparación de medias en el que con diferencias entre tratamientos de $p < 0.05$ se consideraron significantes.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ETAPA I. Obtención y caracterización fisicoquímica de extractos de *E. texana* empleando solventes convencionales y disolventes eutécticos profundos

4.1 Caracterización fisicoquímica de materia prima

En el Cuadro 7 se presentan los resultados de la caracterización fisicoquímica de hojas y ramas de *E. texana*. La humedad obtenida para las hojas y ramas fue relativamente baja ($1.51 \pm 0.28\%$ y $3.77 \pm 0.20\%$, respectivamente), lo cual puede atribuirse al proceso de obtención, que incluyó un secado previo, similar al reportado por Dionicio Concepción (2020), donde la humedad en hojas de *R. microphylla* fue de 2.20%. Este bajo contenido de humedad es beneficioso, ya que contribuye a prevenir la degradación de compuestos bioactivos, lo que lo hace adecuado para análisis posteriores, como los fitoquímicos.

Cuadro 7. Análisis fisicoquímicos en hojas y ramas de *E. texana*.

Parámetros evaluados	Hoja (% peso seco)	Rama (% peso seco)
Humedad	1.51 ± 0.28^b	3.77 ± 0.20^a
Proteína	6.49 ± 0.38^a	3.08 ± 0.19^b
Grasa	2.17 ± 0.343^a	0.73 ± 0.73^b
Ceniza	6.00 ± 0.35^a	6.30 ± 0.53^a
Fibra cruda	17.25 ± 0.07^b	34.05 ± 0.50^a
Carbohidratos totales	38.69 ± 8.00^a	20.39 ± 11.81^a
mg EG/g		
Azúcares totales	112.33 ± 23.39^a	119.08 ± 11.54^a
Azúcares Reductores	54.05 ± 16.57^a	45.56 ± 26.44^a
mg EAG/g		
CFT	7.00 ± 0.32^b	15.67 ± 0.37^a

Porcentaje promedio \pm desviación estándar ($n = 3$); los valores de la misma columna seguidos por letras diferentes, estadísticamente, son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

El contenido de proteína de la hoja de *E. texana* fue de $6.49 \pm 0.38\%$ acercándose a lo reportado por Núñez Mejía et al. (2024); quienes obtuvieron un contenido de $10.75 \pm 0.83\%$ para la misma planta. Sin embargo, las muestras colectadas se realizaron en temporadas diferentes.

Mientras tanto, en contenido de proteína obtenida de rama de *E. texana* fue $3.08 \pm 0.18\%$ teniendo una diferencia significativa con respecto al contenido obtenido en hojas ($6.49 \pm 0.38\%$). El contenido de proteína en estos dos órganos diferentes de la planta son los ideales, ya que en los tejidos de las hojas de las plantas hay mayor presencia de proteínas involucradas en los mecanismos de defensa, las cuales les pueden conferir resistencia, protección y capacidad antifúngica al tejido (Blanco-Labra, 2002; Sepúlveda-Jiménez et al., 2003). El contenido de grasas en hojas y ramas fue relativamente bajo ($2.17 \pm 0.34\%$ y $0.73 \pm 0.73\%$, respectivamente), en contraste con lo reportado por Núñez Mejía et al. (2024), quienes obtuvieron valores de 16.10% y 7.93% , respectivamente, y Suárez Camacho et al. (2023), con valores de 20.20% y 1.60% . Estas diferencias podrían atribuirse a la temporada de recolección, ya que factores ambientales como cambios de temperatura, disponibilidad de agua y luz solar pueden variar significativamente, al igual que las etapas fenológicas de la planta. Las grasas, en particular los lípidos, desempeñan un papel esencial en las plantas, ya que forman parte de las membranas celulares, contribuyen al almacenamiento de energía e influyen en la permeabilidad celular.

En cuanto al contenido de ceniza, tanto hojas y ramas de *E. texana* presentaron valores similares ($6.00 \pm 0.34\%$ y $6.30 \pm 0.52\%$ respectivamente). Un estudio realizado por Forbes (1992) reportó un contenido de cenizas de 7.17% en hojas de *E. polystachya*, valor comparable con los obtenidos en el presente trabajo. El contenido de cenizas en plantas de zonas áridas y semiáridas se asocia principalmente con su capacidad para retener minerales, considerándose que la acumulación de este tipo de sales forma parte de los mecanismos de defensa de la planta frente a condiciones ambientales adversas (Andrade-Bustamante et al., 2017; Barroso et al., 2005).

El contenido de fibra cruda obtenido en las hojas fue de $17.25 \pm 0.07\%$, mientras que en las ramas fue de $34.05 \pm 0.50\%$. Este último valor es consistente con lo reportado por Núñez Mejía et al. (2024), quienes informaron un contenido de fibra cruda en ramas de 32% . Los resultados de este estudio confirman que las ramas poseen un mayor contenido de fibra en comparación con las hojas, lo cual se debe a su composición estructural. Las ramas están formadas principalmente por tejidos como la epidermis (en plantas jóvenes) o la peridermis (en plantas adultas), así como por sistemas fundamentales como el colénquima, parénquima y esclerénquima, los cuales varían según el estado fenológico de la planta. En general, una planta adulta tendrá un mayor contenido de fibra debido a su mayor grado de desarrollo estructural.

El análisis del contenido de fibra es relevante no solo por sus beneficios nutricionales, sino también por sus propiedades bioactivas. La fibra contribuye a la prevención y el manejo de enfermedades gracias a su contenido de compuestos antioxidantes y antiinflamatorios. Por lo tanto, la determinación del contenido de fibra en los distintos órganos de la planta tiene un impacto significativo en la formulación de productos alimenticios y en el aprovechamiento de sus beneficios para la salud.

En el caso de los carbohidratos totales, las hojas presentaron un valor de $38.69 \pm 8.00\%$, mientras que las ramas un valor de $20.39 \pm 11.81\%$, sin observar diferencias significativas entre ambos órganos. Según un estudio realizado por Dionicio Concepción (2020) en *R. microphylla*, se reportó un contenido de carbohidratos en hojas de 78.10%. Esto corrobora el hecho de que las plantas de zonas áridas y semiáridas suelen presentar un alto contenido de carbohidratos, lo que podría estar relacionado con su capacidad de adaptación a condiciones extremas y su rol en el almacenamiento de energía para procesos metabólicos esenciales. De acuerdo a Pallardy (2008) los carbohidratos son los productos principales de la fotosíntesis, considerados como fuente principal de reserva energética en comparación con los lípidos. De esta forma, los procesos como la reproducción, defensa, mantenimiento, almacenamiento y crecimiento dependen de los carbohidratos como fuente de energía (Lilly, 2001). Asimismo, la distribución de carbohidratos por las hojas y ramas de las plantas es controlada principalmente por el estado fenológico, por lo que el contenido de carbohidratos (azúcares) en los órganos de las plantas es decisivo para afrontar condiciones adversas que se presentan (Martínez-Trinidad et al., 2013). Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran un contenido relativamente bajo en comparación con lo reportado por diversos autores, como Suárez-Camacho et al. (2023), que presenta valores de 61.47% y 85.71%; mientras que Núñez Mejía et al. (2024) reportaron valores de 26.50% y 44.90% en hojas y ramas, respectivamente.

En cuanto a los azúcares totales, se determinó un alto contenido en la materia prima de *E. texana*, tanto en hojas como en ramas, con valores de 112.33 ± 23.39 y 119.08 ± 11.54 mg EG/g muestra, respectivamente. Según el análisis de comparación de medias, no se observaron diferencias significativas en los contenidos de azúcares totales y reductores entre ambos órganos. Sin embargo, se identificaron diferencias ($p < 0.05$) en el contenido de azúcares totales de cada órgano en relación con sus azúcares reductores. Por otro lado, el CFT fue significativamente mayor

en las ramas, con un valor de 15.67 ± 0.37 mg equivalentes de ácido gálico (mg EAG)/g muestra, en comparación con las hojas, que presentaron un contenido de 7.0 ± 0.32 mg EAG/g muestra. Este resultado podría explicarse por diversas razones. Las ramas, al ser estructuras más permanentes y menos reemplazables que las hojas, requieren mayor protección frente a factores ambientales adversos. Además, al tratarse de estructuras perennes, las ramas tienen la capacidad de acumular una mayor cantidad de fenoles a lo largo del tiempo. En contraste, las hojas son estructuras temporales que se renuevan con mayor frecuencia, lo que podría limitar su acumulación de fenoles.

Jiménez-Ferrer et al. (2008) afirman que el análisis fisicoquímico puede variar según las épocas del año. Esto se demostró en un estudio sobre especies de uso forrajero, incluyendo *E. adenostylis*, realizado en temporada seca y de lluvias. Los resultados mostraron un contenido de proteína cruda de 19% y 15.8%, fibra cruda neutra de 43.3% y 61.4%, y ceniza de 18% y 6.8%, respectivamente.

4.2 Producción de extractos de *E. texana* empleando solventes convencionales y disolventes eutécticos profundos

Los rendimientos de los extractos obtenidos a partir de hojas y ramas de *E. texana* se presentan en el Cuadro 8. Los porcentajes de rendimiento fueron evaluados mediante una comparación de medias para cada uno de los órganos de la planta. En hojas, los análisis estadísticos indicaron diferencias significativas al emplear etanol absoluto como disolvente, obteniéndose un rendimiento de $67.14 \pm 2.69\%$, el más alto en comparación con los demás disolventes. El comportamiento de los rendimientos en hojas, de mayor a menor, fue el siguiente: E>E-A>DEP4>DEP5>DEP3>DEP2>A>DEP1. Los últimos cinco extractos no mostraron diferencias significativas.

En el caso de las ramas, también se observaron diferencias significativas entre algunos extractos, con el siguiente orden descendente: E>A>DEP2>DEP4>E-A>DEP5>DEP3>DEP1. Los tres últimos extractos no presentaron diferencias significativas, mostrando rendimientos similares. De acuerdo a Dirar et al. (2019) indicaron que el uso de diferentes solventes de extracción se obtienen rendimientos variables, lo cual afirman que se debe a la naturaleza y cantidad de metabolitos secundarios extraídos. Estos autores realizaron extracciones de diferentes especies de plantas usando diferentes solventes, obteniendo mayores rendimientos en los extractos

tratados con agua, hidroalcohólicos al 50% y al 70%; esto puede deberse a la solubilidad de los carbohidratos polares y los glucósidos de los metabolitos secundarios.

Cuadro 8. Rendimiento de extractos de hojas y ramas de *E. texana*.

Órgano	Extracto	Rendimiento (%)
Hojas	E-A	53.57±1.60 ^b
	A	41.90±2.69 ^c
	E	67.14±2.69 ^a
	DEP1	40.95±2.69 ^c
	DEP2	41.43±0.67 ^c
	DEP3	44.29±0.67 ^c
	DEP4	45.71±5.38 ^{bc}
	DEP5	45.0±0.33 ^c
Ramas	E-A	49.29±1.0 ^{cd}
	A	60±0.60 ^{ab}
	E	66.67±3.36 ^a
	DEP1	45.24±1.34 ^d
	DEP2	55.71±6.0 ^{bc}
	DEP3	45±1.00 ^d
	DEP4	49.52±0.67 ^{cd}
	DEP5	47.62±1.01 ^d

Valor promedio ± desviación estándar (n = 4); los valores de la misma columna seguidos por letras diferentes, son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) entre el mismo órgano. Solventes: EA = Hidroalcohólico, A = acuoso y E = etanólico.

Se considera que la propiedad y textura de viscosidad del solvente de extracción es un factor crítico que pueden afectar varios aspectos durante el proceso de extracción, desde la difusión y penetración hasta la solubilidad y la manipulación del extracto, lo que a su vez puede influir significativamente en el porcentaje de rendimiento de extracción. Es el caso de los DEP utilizados, ya que por las propiedades viscosas de la mayoría de ellos se obtuvieron menores rendimientos en comparación con los solventes convencionales utilizados.

4.3 Cuantificación de azúcares totales y reductores de extractos

En el Cuadro 9 se muestran los contenidos de azúcares totales y reductores de los extractos de *E. texana*, con el uso de diferentes solventes.

Cuadro 9. Azúcares totales y reductores de extractos de hojas y ramas de *E. texana*.

Extracto	Azúcares totales (mg EG/g extracto)		Azúcares reductores (mg EG/g extracto)	
	Hojas	Ramas	Hojas	Ramas
E-A	677.64±4.19 ^{ab}	64.11±1.40 ^c	634.47±6.93 ^a	713.65±18.99 ^b
A	581.69±1.11 ^b	97.93±4.01 ^c	579.96±28.13 ^a	636.88±11.96 ^{bc}
E	599.61±20.19 ^b	69.08±2.73 ^c	524.05±21.00 ^a	515.86±3.42 ^c
DEP1	727.84±7.21 ^{ab}	80.71±4.25 ^c	658.59±4.12 ^a	638.59±23.81 ^{bc}
DEP2	799.45±7.33 ^{ab}	112.42±4.36 ^{bc}	575.74±6.43 ^a	688.48±19.89 ^b
DEP3	951.84±42.03 ^a	316.13±37.59 ^a	698.45±22.11 ^a	864.93±11.93 ^a
DEP4	702.22±2.39 ^{ab}	211.66±5.29 ^{ab}	599.96±24.52 ^a	709.03±28.84 ^b
DEP5	154.36±1.57 ^c	136.64±0.37 ^{bc}	122.23±9.55 ^b	100.50±7.13 ^d

Valor promedio ± desviación estándar; los valores de la misma columna seguidos por letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). Solventes: EA = Hidroalcohólico, A = acuoso y E = etanólico.

El análisis comparativo de los valores obtenidos con diferentes solventes permitió determinar cuál de ellos favorece una mayor extracción de azúcares y evaluar el contenido de

azúcares en los distintos órganos de *E. texana*. En términos de azúcares totales, las hojas presentaron un mayor contenido en comparación con las ramas. Aunque la mayoría de los extractos mostraron valores similares sin diferencias estadísticamente significativas, el extracto DEP5 presentó un contenido ($p < 0.05$) menor, con un valor de 154.36 ± 1.57 mg EG/g de extracto.

En cuanto a los azúcares reductores, no se observaron diferencias significativas en las hojas, salvo nuevamente en el extracto DEP5, con un contenido de 122.23 ± 9.55 mg EG/g. En las ramas, se registraron diferencias significativas en los extractos DEP3 y DEP5, con valores de 864.93 ± 11.93 y 100.50 ± 7.13 mg EG/g, respectivamente.

El tipo de mecanismo de extracción, las condiciones de operación y los solventes empleados son factores críticos que influyen en la cantidad de azúcares extraídos, tanto totales como reductores. Esto se refleja en la comparación con los valores reportados para la materia prima (Cuadro 7), donde se detectó un menor contenido de azúcares en comparación con las extracciones.

Los resultados sugieren que *E. texana* genera un mayor contenido de azúcares totales como un mecanismo de defensa frente a condiciones adversas de su entorno semidesértico. Según Montenegro-Ruiz et al. (2012), el contenido de azúcares totales en las plantas aumenta en condiciones de deshidratación, como sequías, y disminuye al rehidratarse. Este comportamiento se interpreta como un ajuste osmótico y una estrategia de osmoprotección para mantener la integridad celular.

El elevado contenido de azúcares totales en las hojas de *E. texana* destaca su potencial bioactivo para diversas aplicaciones industriales. En la industria alimentaria, estos azúcares pueden emplearse como edulcorantes, conservantes y mejoradores del sabor, además de ser útiles en la producción de biocombustibles y productos fermentados como vino, cerveza y yogur. En la industria farmacéutica, son clave para la formulación de jarabes, medicamentos y recubrimientos de tabletas, mientras que en la industria cosmética se utilizan como humectantes y emolientes. En la industria textil, contribuyen al tratamiento de fibras, mejorando sus propiedades físicas y químicas.

De igual manera, el contenido elevado de azúcares reductores tiene aplicaciones en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética, actuando como conservantes antimicrobianos, mejoradores de textura y estabilidad, humectantes, y agentes funcionales en procesos de

fermentación y producción de materiales biodegradables como bioplásticos. Estos resultados abren nuevas oportunidades para el aprovechamiento industrial de los azúcares presentes en *E. texana*. Cabe señalar que este es el primer estudio que presenta la determinación del contenido de azúcares en hojas y ramas de *E. texana*, el cual puede tomarse como antecedente para su futura investigación y aplicación.

4.4 Contenido de Fenoles Totales (CFT) y contenido total de flavonoides (CTF)

En el Cuadro 10 se muestra el CFT y CTF de los extractos de *E. texana*. El CFT en los extractos obtenidos con diferentes solventes muestra valores destacados, especialmente en hojas, donde los extractos con DEP presentan concentraciones significativamente mayores en comparación con los solventes convencionales, con excepción del extracto E-A.

Cuadro 10. Contenido de Fenoles Totales (CFT) y contenido total de flavonoides (CTF) de extractos de *E. texana*.

Extracto	CFT (mg EAG/g extracto)		CTF (mg EQE/g extracto)	
	Hojas	Ramas	Hojas	Ramas
E-A	14.95±1.25 ^{bc}	14.73±1.37 ^b	30.62±1.57 ^b	29.44±2.10 ^a
A	10.78±1.44 ^{cd}	13.0±1.27 ^b	23.74±2.55 ^c	17.49±3.01 ^{cd}
E	8.0±0.85 ^d	4.51±0.71 ^c	24.79±3.82 ^c	11.38±4.46 ^e
DEP 1	17.54±1.81 ^{ab}	11.0±1.98 ^b	13.72±2.57 ^d	15.58±3.90 ^d
DEP 2	17.95±1.37 ^{ab}	14.37±1.76 ^b	40.17±5.68 ^a	27.31±3.27 ^a
DEP 3	19.20±2.94 ^{ab}	18.91±1.47 ^a	44.6±3.61 ^a	26.84±2.47 ^a
DEP 4	18.96±3.50 ^{ab}	18.84±1.84 ^a	26.03±3.87 ^{bc}	22.87±1.38 ^b
DEP 5	20.87±2.36 ^a	20.93±1.47 ^a	15.54±1.88 ^d	19.85±2.0 ^{bc}

Valor promedio ± desviación estándar; los valores de la misma columna seguidos por letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). Solventes: EA = Hidroalcohólico, A = acuoso y E = etanólico.

El extracto E-A no presenta diferencias ($p > 0.05$) con los extractos obtenidos con los DEP1, DEP2, DEP3 y DEP4. Sin embargo, el DEP5 se distingue al mostrar una diferencia significativa

respecto a los extractos E-A, A y E, con un contenido de 20.87 ± 2.36 mg EAG/g de extracto, seguido por DEP3 (19.20 ± 2.94), DEP4 (18.96 ± 3.50), DEP1 (17.54 ± 1.81) y DEP2 (17.95 ± 1.37 mg EAG/g de extracto), respectivamente. La clasificación de los extractos en orden descendente según el CFT es la siguiente: DEP5>DEP3, DEP4>DEP1, DEP>E-A>A>E.

En el caso de las ramas, los extractos DEP3, DEP4 y DEP5 mostraron contenidos más altos con valores de 18.91 ± 1.47 , 18.84 ± 1.84 y 20.93 ± 1.47 mg EAG/g de extracto, respectivamente, sin diferencias significativas entre ellos. Sin embargo, estos extractos presentaron diferencias estadísticamente significativas en comparación con los extractos E-A, A, DEP1 y DEP2 (14.73 ± 1.37 , 13.0 ± 1.27 , 11.0 ± 1.98 , 14.37 ± 1.76 mg EAG/g de extracto). No se observaron diferencias estadísticas significativas entre los extractos mencionados previamente. El extracto E mostró diferencias significativas en comparación con el resto de los extractos, con un contenido más bajo de 4.51 ± 0.71 mg EAG/g de extracto. En este caso, la clasificación de los extractos en orden descendente según el contenido de fenoles totales es la siguiente: DEP3, DEP4, DEP5 > E-A, A, DEP1, DEP2 > E.

Suárez-Camacho et al. (2023) realizaron un estudio sobre extractos de hojas y ramas de *E. texana* utilizando solventes acuosos, hidroalcohólicos y etanólicos, obteniendo valores de CFT significativamente mayores en ambos órganos de la planta en comparación con los resultados obtenidos en el presente trabajo. En hojas, el extracto tratado con etanol mostró el mayor CFT, con un contenido de 108.95 mg EAG/g de extracto, seguido por el extracto hidroalcohólico (60.67 mg EAG/g) y el acuoso (43.94 mg EAG/g). En ramas, el extracto acuoso presentó el mayor contenido de CFT con 85.89 mg EAG/g, seguido del etanólico (69.00 mg EAG/g) y el hidroalcohólico (76.95 mg EAG/g). Uno de los factores críticos que podría haber contribuido a la obtención de un mayor CFT es la concentración de los extractos mediante liofilización (para acuoso e hidroalcohólico) y el uso de evaporador rotatorio (para etanólico). Estos métodos permiten una mayor preservación de compuestos sensibles, al minimizar la exposición al calor y al oxígeno, lo que reduce la pérdida de fenoles por oxidación. Además, los extractos concentrados tienden a tener mayor estabilidad a largo plazo.

Un estudio comparativo realizado por Ortiz López et al. (2019) sobre diferentes métodos de secado en plantas medicinales mostró que los extractos liofilizados tenían un contenido significativamente mayor de CFT y una mejor actividad antioxidante en comparación con los extractos secados al aire o al horno. Según Bhattacharya et al. (2010) y Sampaio et al. (2016), otro factor importante es que la concentración de compuestos fenólicos en cualquier tejido vegetal puede depender de la estación del año y variar durante las diferentes etapas de crecimiento y desarrollo de la planta.

El CTF en los extractos evaluados con los diferentes solventes de distinta polaridad muestra un especial interés en los extractos DEP2 y DEP3, ya que se obtuvieron contenidos en hojas de 40.17 ± 5.68 y 44.6 ± 3.61 mg EQE/g de extracto, respectivamente, sin mostrar diferencias significativas entre sí. Estos fueron seguidos por el extracto E-A con un contenido de 30.62 ± 1.57 mg EQE/g y el extracto DEP4 con 26.03 ± 3.87 mg EQE/g. Los extractos A y E presentaron contenidos de 23.74 ± 2.55 y 24.79 ± 3.82 mg EQE/g, respectivamente, sin diferencias estadísticas significativas. Los dos extractos de hojas con los menores contenidos de equivalentes de quercetina fueron DEP1 y DEP5, con contenidos de 13.72 ± 2.57 y 15.54 ± 1.88 mg EQE/g, respectivamente. Los extractos se ordenan de forma ascendente en función del contenido de flavonoides totales: DEP2 > DEP3 > E-A > DEP4 > A > E > DEP5 > DEP1.

En el caso de las ramas, los extractos DEP2, DEP3 y E-A mostraron contenidos de flavonoides relevantes, con 27.31 ± 3.27 , 26.84 ± 2.47 y 29.44 ± 2.10 mg EQE/g, respectivamente, seguidos por DEP4 y DEP5 (22.87 ± 1.38 y 19.85 ± 2.0 mg EQE/g, respectivamente, sin diferencias significativas). Los extractos A y DEP1 presentaron contenidos de 17.49 ± 3.01 y 15.58 ± 3.90 mg EQE/g, respectivamente. El extracto etanólico (E) mostró el menor valor de CTF, con 11.38 ± 4.46 mg EQE/g, presentando diferencias significativas con respecto a los demás extractos. El orden de los extractos, en función del CTF, es: E-A > DEP2 > DEP3 > DEP4 > DEP5 > A > DEP1 > E.

Saudy Saret et al. (2018) obtuvieron extractos etanólicos de *E. polystachya* a partir de la corteza seca y pulverizada, reportando un CTF de 3.72 mg EQE/g de extracto, similar al contenido del extracto etanólico de ramas de *E. texana*. Asimismo, Sulaiman et al. (2014) reportaron un CTF en extractos de la corteza de *Acacia catechu*, una planta de la misma familia de las leguminosas

que comparte hábitat con *E. texana*, encontrando un contenido de 3.26 mg EQE/g de extracto con metanol, similar al contenido de flavonoides en el extracto etanólico de ramas de *E. texana*.

Los flavonoides son responsables de características como el color, fragancia y sabor en las plantas. Además, desempeñan funciones cruciales, como regular el crecimiento celular, atraer insectos polinizadores y proteger contra el estrés biótico y abiótico. El alto contenido de flavonoides en los extractos obtenidos con DEP y solventes convencionales puede ser de gran interés para futuras aplicaciones en diversas industrias, como la alimentaria, donde estos compuestos pueden servir como conservantes, pigmentos y antioxidantes, así como en las industrias de la cosmética y farmacéutica (Días et al., 2021).

Es importante destacar que este es el primer estudio realizado en la cuantificación del contenido de fenoles y flavonoides totales en extractos utilizando DEP. Por lo tanto, los resultados obtenidos son de gran relevancia para futuras investigaciones y aplicaciones en diversas industrias, especialmente la alimentaria

ETAPA II. Evaluación y comparación de las propiedades bioactivas de extractos de *E. texana* obtenidos con solventes convencionales y disolventes eutécticos profundos

4.5 Actividad antioxidante

En el Cuadro 11 se muestra la actividad antioxidante de los extractos de *E. texana* mediante las técnicas DPPH y ABTS. En hojas, los extractos E-A, E, DEP1 y DEP4 mostraron la mayor capacidad de captación de radicales de hidrógeno, con valores de 87.78 ± 9.77 , 82.37 ± 2.42 , 92.69 ± 4.87 y 86.28 ± 4.50 mg ET/g de extracto, respectivamente, sin diferencias estadísticas significativas entre ellos. Estos fueron seguidos por el extracto DEP5 (73.29 ± 6.40 mg ET/g de extracto) y DEP3 (45.33 ± 9.14 mg ET/g de extracto). Los extractos A y DEP2 mostraron el menor contenido de radicales captadores de hidrógeno, sin diferencias significativas, con valores de 10.27 ± 7.44 y 12.06 ± 7.00 mg ET/g de extracto, respectivamente. El orden descendente de los extractos según su contenido de radicales captadores de hidrógeno es el siguiente: DEP1 > E-A > E > DEP4 > DEP5 > DEP3 > A > DEP2.

Cuadro 11. Contenido de actividad antioxidante de extractos de *E. texana* mediante técnicas de DPPH y ABTS.

Extracto	DPPH		ABTS	
	mg ET/g extracto		mg ET/g extracto	
	Hojas	Ramas	Hojas	Ramas
E-A	87.78±9.7 ^{ab}	67.37±3.89 ^b	95.26±6.62 ^{ab}	89.74±10.96 ^{bc}
A	10.27±7.4 ^d	40.39±4.08 ^d	53.61±7.86 ^d	72.0±4.54 ^c
E	82.37±2.4 ^{ab}	36.19±2.92 ^d	65.69±4.36 ^c	32.22±6.08 ^d
DEP 1	92.69±4.8 ^a	67.80±5.76 ^b	30.88±5.91 ^e	34.86±10.0 ^d
DEP 2	12.06±7.0 ^d	15.02±4.08 ^e	106.25±5.24 ^a	112.67±2.01 ^a
DEP 3	45.33±9.1 ^c	51.98±8.59 ^c	41.96±7.74 ^e	86.73±7.56 ^{bc}
DEP 4	86.28±4.5 ^{ab}	91.05±4.78 ^a	91.69±3.29 ^b	108.99±2.44 ^a
DEP 5	73.29±6.4 ^b	96.44±3.02 ^a	99.68±4.48 ^b	96.54±4.08 ^{ab}

Valor promedio ± desviación estándar; los valores de la misma columna seguidos por letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). Solventes: EA = Hidroalcohólico, A = acuoso y E = etanólico.

En ramas, los extractos DEP4 y DEP5 presentaron el mayor contenido de radicales captadores de hidrógeno, con valores de 91.05 ± 4.78 y 96.44 ± 3.02 mg ET/g de extracto, respectivamente. Estos fueron seguidos por los extractos DEP1 y E-A (67.80 ± 5.76 y 67.37 ± 3.89 mg ET/g de extracto, respectivamente), y el extracto DEP3, que mostró un contenido de 51.98 ± 8.59 mg ET/g de extracto. Los extractos A y E exhibieron valores de 40.39 ± 4.08 y 36.19 ± 2.92 mg ET/g de extracto, respectivamente, sin diferencias significativas. El extracto acuoso en ramas presentó un alto contenido de radicales captadores de hidrógeno, lo cual es interesante dado su bajo contenido en hojas. El extracto DEP2 tuvo el menor contenido con 15.02 ± 4.08 mgET/g de extracto. El orden descendente de los extractos según su contenido de radicales captadores de hidrógeno es el siguiente: DEP4 > DEP5 > DEP1 > E-A > DEP3 > A > E > DEP2.

En la técnica ABTS, que mide la capacidad de donar electrones, los extractos de hojas mostraron los mayores contenidos en E-A, DEP2, DEP4 y DEP5 (95.26 ± 6.62 , 106.25 ± 5.24 ,

91.69 ± 3.29 y 99.68 ± 4.48 mg ET/g de extracto, respectivamente). Los extractos E-A y DEP2 presentaron la mayor capacidad de donar electrones al radical ABTS, mostrando diferencias significativas con respecto a DEP4 y DEP5. Les siguen los extractos A y E (53.61 ± 7.86 y 65.69 ± 4.36 mg ET/g de extracto, respectivamente). Finalmente, los extractos DEP1 y DEP3 mostraron los menores contenidos (30.88 ± 5.91 y 41.96 ± 7.74 mg ET/g de extracto, respectivamente). El orden de los extractos según su capacidad de donar electrones es: DEP2 > E-A > DEP4 > DEP5 > E > A > DEP1 > DEP3. En ramas, los mayores contenidos se encontraron en los extractos DEP2, DEP4 y DEP5 (112.67 ± 2.01, 108.99 ± 2.44 y 96.54 ± 4.08 mg ET/g de extracto, respectivamente), sin diferencias significativas entre ellos. Estos fueron seguidos por los extractos E-A, A y DEP3 (89.74 ± 10.96, 72.0 ± 4.54 y 86.73 ± 7.56 mg ET/g de extracto, respectivamente). Los extractos que mostraron menor capacidad de donar electrones fueron E y DEP1 (32.22 ± 6.08 y 34.86 ± 10.0 mg ET/g de extracto). Algunos extractos de ramas mostraron mayor contenido que los de hojas, lo que se debe a su capacidad de donar una mayor cantidad de electrones al radical libre ABTS+ y reducirlo a ABTS, resultando en una mayor capacidad de decoloración.

Algunos de los extractos evaluados mostraron diferencias en la capacidad antioxidante según la técnica empleada. Por ejemplo, el extracto A mostró con la técnica DPPH un contenido de 10.27 ± 7.44 mg ET/g en hojas y 40.39 ± 4.08 mg ET/g en ramas, mientras que con la técnica ABTS se observaron contenidos de 53.61 ± 7.86 mg ET/g y 72.0 ± 4.54 mg ET/g, respectivamente. De manera similar, el extracto DEP2 presentó en hojas y ramas contenidos diferentes: 12.06 ± 7.00 y 15.02 ± 4.08 mg ET/g según DPPH, y 106.25 ± 5.24 y 112.67 ± 2.01 mg ET/g en el método de ABTS. Estas diferencias pueden atribuirse a varios factores, como los mecanismos de reacción de cada técnica, la estructura química y los grupos funcionales de los antioxidantes, que determinan su eficiencia en cada tipo de reacción, así como la solubilidad de los antioxidantes en los solventes utilizados, que también puede influir en la actividad.

Pocos estudios han investigado la actividad antioxidante de extractos de *E. texana*, pero sí se han realizado diversas investigaciones con plantas del mismo género y con plantas que comparten hábitats similares, como zonas áridas o semiáridas. Un estudio de Narváez et al. (2007) evaluaron antioxidantes mediante la técnica DPPH en extractos metanólicos de hojas y ramas de especies del género *Eysenhardtia*, incluyendo *E. platycarpa*, *E. punctata* y *E. subcoriacea*. Los

resultados obtenidos son comparables con los extractos hidroalcohólicos (E-A) y etanólicos (E) de hojas y ramas de *E. texana* del presente estudio.

Según el reporte de Jasso de Rodríguez et al. (2019), *Juglans microcarpa* ha demostrado un contenido de actividad antioxidante del 89.6% mediante la técnica DPPH, expresado como porcentaje de actividad eliminadora (% RSA). Este comportamiento es comparable con los extractos hidroalcohólicos (E-A) y etanólicos (E) de hojas. De manera similar, los extractos etanólicos de hojas de *F. cernua* han mostrado una actividad antioxidante del 32.50% bajo la técnica ABTS, también expresada como porcentaje de actividad eliminadora, lo cual refleja una correspondencia con los resultados obtenidos en los extractos de *E. texana*.

Djaoudene et al. (2024) evaluaron extractos de 8 cultivares diferentes de *Phoenix dactylifera* L. utilizando DEP (ácido láctico + sucrosa, 3:1), obteniendo valores de capacidad antioxidante (ABTS) de 838.7, 214.1, 257.5, 242.5, 183.9, 281.1, 125.4 y 249.2 mg ET/100 g. Estos resultados subrayan el potencial antioxidante significativo de los extractos de *E. texana* obtenidos mediante DEP, lo cual es relevante para futuras aplicaciones en las industrias como la alimentaria, cosmética o industrias farmacéuticas.

4.6 Actividad antifúngica

En la Figura 24 se muestran los porcentajes de inhibición de los diferentes extractos, con respecto al tiempo, contra *A. niger*. Se observa que la actividad de los extractos va aumentando conforme avanza el tiempo y de acuerdo al tratamiento (concentración) en el que se encuentra. Al final de las 96 h se puede verificar que la actividad inhibitoria de los extractos obtenidos a partir de solventes convencionales fue prácticamente nula, a comparación de los DEP, ya que éstos mostraron una alta capacidad de inhibición contra el hongo en cuestión, en cualquiera de las concentraciones evaluadas (0.5%, 5%, 20%). Es interesante la actividad biocida de los extractos de *E. texana* obtenidos con DEP, por lo que en futuras investigaciones podría ser estudiado en diversos campos, como en la agricultura, alimentos, medicina, etcétera.

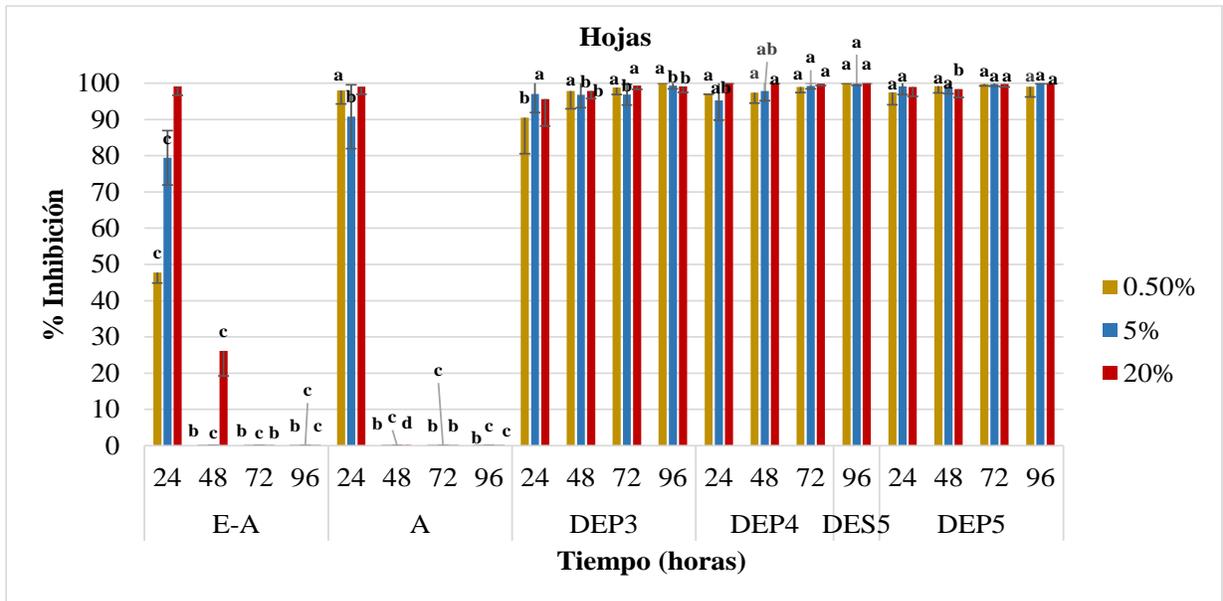


Figura 24. Porcentajes de inhibición de *A. niger* con extractos convencionales y con DEP obtenidos de hojas a distintas concentraciones. Letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

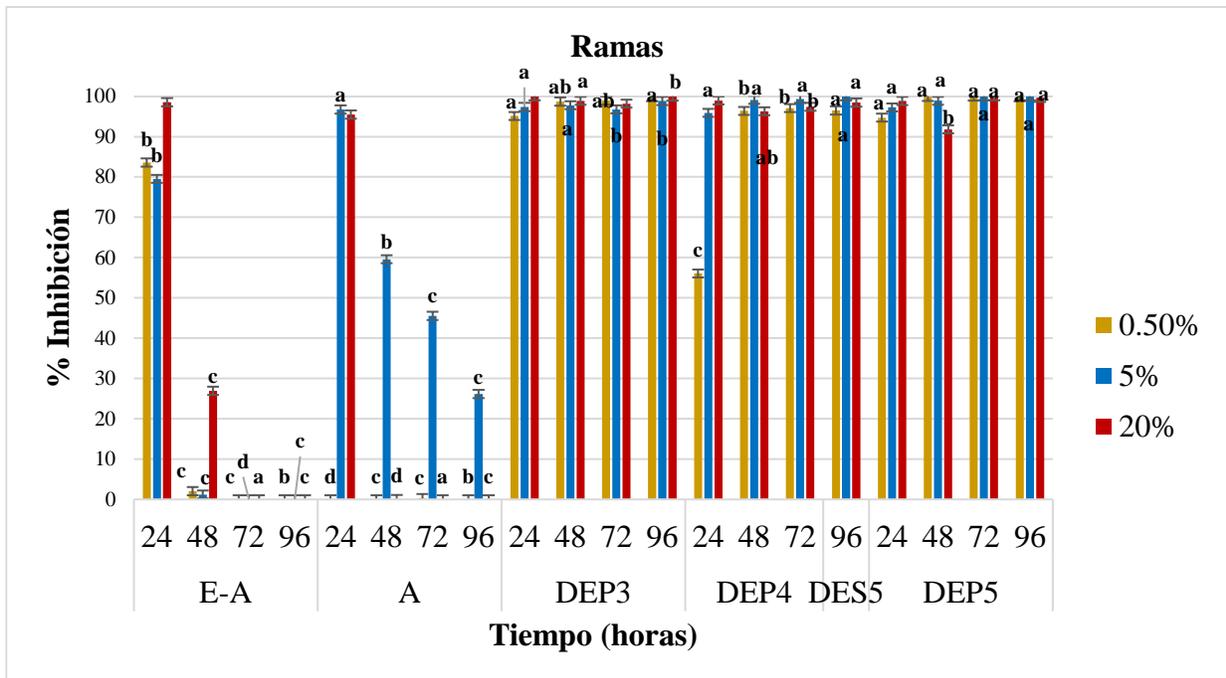


Figura 25. Porcentajes de inhibición de *A. niger* con extractos convencionales y con DEP obtenidos de ramas a distintas concentraciones. Letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Los resultados obtenidos son comparables a los reportados por Lira-Saldívar et al. (2003), quienes describen que *L. tridentata* presenta importantes efectos biocidas, corroborados por diversas investigaciones que utilizaron su extracto metanólico. Dichas investigaciones demostraron su capacidad para inhibir el hongo del género *Pythium*. En otro estudio con la misma planta, la utilización de la resina hidrosoluble del extracto mostró actividad inhibitoria contra el crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *licopersici*, con una inhibición del 63.2%. Además, *Botrytis cinerea* fue inhibida en un 96% y *Colletotrichum coccodes* en un 80.2% al aplicarse una concentración de 1 mg/L (Lira-Saldívar et al., 2006).

Por otro lado, un estudio de Moreno-Limón et al. (2011) evidenció que tanto el extracto metanólico como el etanólico de *L. tridentata* a una concentración de 100 mg/mL, utilizando el método de dilución en agar, inhibieron en un 100% a *Penicillium* sp.. Sin embargo, solo el extracto etanólico logró inhibir completamente a *A. flavus*.

Además, estudios con extractos metanólicos de *Jatropha cuneata* a una concentración de 500 µg/mL mostraron una fuerte actividad antifúngica contra *F. verticillioides* (42%), aunque una menor inhibición contra *A. niger* (6.75%) fue observada (Ruiz-Bustos et al., 2009). Esto podría sugerir que *A. niger* es menos susceptible a inhibición mediante extractos obtenidos con solventes convencionales, lo que abre la posibilidad de que los DEP puedan tener un alto potencial para futuras aplicaciones en el control antifúngico.

ETAPA III. Efecto de la incorporación de extractos bioactivos de *E. texana* en la vida de anaquel de tortilla de maíz

4.7 Evaluación de parámetros fisicoquímicos

En los Cuadros 12-16 se pueden observar los diferentes parámetros fisicoquímicos medidos en las tortillas de maíz durante el almacenaje a 4°C por 15 días. Las mediciones fueron realizadas cada tercer día, así mismo se emplearon dos concentraciones del extracto (0.2% y 0.4%). Se realizó un análisis estadístico mediante comparación de medias, en el que fueron comparados cada uno de los tratamientos con respecto a los dos controles (control absoluto y conservador comercial, benzoato de sodio). Se puede observar que las comparaciones de los tratamientos (aquellas tortillas adicionadas con algún extracto) con respecto a ambos controles, no muestran diferencias estadísticas significativas en diámetro durante el almacenaje.

Cuadro 12. Monitoreo de diámetro (cm) en la vida de anaquel de tortilla de maíz a 4°C durante 15 días.

Tratamiento	Almacenamiento (días)					
	0	3	6	9	12	15
Control absoluto	10.18±0.00 ^{bc}	10.38±0.10 ^{ab}	10.23±0.20 ^b	10.25±0.09 ^b	10.25±0.09 ^{bc}	10.30±0.2 ^{ab}
Benzoato de sodio 0.8%	10.83±0.24 ^a	10.88±0.28 ^a	10.95±0.30 ^a	10.95±0.43 ^a	10.83±0.15 ^a	10.85±0.22 ^a
DEP4 – (H) 0.2%	9.01±0.21 ^d	9.18±0.16 ^c	9.09±0.17 ^d	9.08±0.25 ^c	9.12±0.03 ^d	9.13±0.24 ^c
DEP4 – (H) 0.4%	9.36±0.25 ^d	9.47±0.38 ^c	9.28±0.48 ^b	9.20±0.39 ^d	9.43±0.32 ^c	9.28±0.38 ^c
DEP4 – (R) 0.2%	9.73±0.25 ^c	9.73±0.40 ^{bc}	9.63±0.15 ^c	9.65±0.09 ^{bc}	9.73±0.07 ^c	9.63±0.14 ^{bc}
DEP4 – (R) 0.4%	9.98±0.10 ^c	10.0±0.22 ^{bc}	10.02±0.14 ^{ab}	10.06±0.20 ^c	10.05±0.15 ^{bc}	10.05±0.22 ^{bc}
DEP5 – (H) 0.20%	9.97±0.31 ^{bc}	10.03±0.35 ^b	10.03±0.21 ^{bc}	9.78±0.23 ^{bc}	9.84±0.14 ^{bc}	9.80±0.6 ^{bc}
DEP5 – (H) 0.40%	10.61±0.29 ^{ab}	10.63±0.26 ^{ab}	10.67±0.28 ^a	10.65±0.23 ^{ab}	10.53±0.15 ^{ab}	10.63±0.15 ^a
DEP5 – (R) 0.20%	10.33±0.13 ^{ab}	10.40±0.09 ^{ab}	10.32±0.22 ^b	10.27±0.21 ^{ab}	10.27±0.25 ^b	10.24±0.21 ^{ab}
DEP5 – (R) 0.40%	10.38±0.16 ^{abc}	10.45±0.05 ^{ab}	10.50±0.10 ^a	10.33±0.12 ^c	10.18±0.19 ^{abc}	10.32±0.10 ^{abc}

Valor promedio ± desviación estándar; los valores de la misma columna seguidos por letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

Cuadro 13. Monitoreo espesor (cm) en la vida de anaquel de tortilla de maíz a 4°C durante 15 días.

Tratamiento	Almacenamiento (días)					
	0	3	6	9	12	15
Control absoluto	0.21±0.03 ^{bc}	0.20±0.02 ^b	0.20±0.00 ^c	0.20±0.00 ^b	0.21±0.01 ^b	0.21±0.01 ^c
Benzoato de sodio 0.8%	0.18±0.02 ^c	0.19±0.02 ^b	0.20±0.00 ^c	0.21±0.01 ^b	0.21±0.01 ^b	0.22±0.02 ^c
DEP4 – (H) 0.2%	0.33±0.01 ^a	0.34±0.02 ^a	0.33±0.03 ^a	0.35±0.03 ^a	0.35±0.02 ^a	0.38±0.04 ^a
DEP4 – (H) 0.4%	0.28±0.0 ^a	0.27±0.02 ^a	0.29±0.03 ^a	0.28±0.00 ^a	0.29±0.01 ^a	0.27±0.01 ^a
DEP4 – (R) 0.2%	0.27±0.03 ^{ab}	0.26±0.04 ^b	0.27±0.03 ^{ab}	0.25±0.01 ^{ab}	0.27±0.01 ^b	0.31±0.03 ^{ab}
DEP4 – (R) 0.4%	0.27±0.06 ^a	0.24±0.04 ^{ab}	0.22±0.04 ^b	0.23±0.02 ^b	0.25±0.03 ^{ab}	0.25±0.03 ^{ab}
DEP5 – (H) 0.20%	0.22±0.03 ^{bc}	0.25±0.03 ^b	0.23±0.01 ^{bc}	0.25±0.02 ^b	0.25±0.01 ^b	0.25±0.03 ^{bc}
DEP5 – (H) 0.40%	0.21±0.01 ^{ab}	0.21±0.03 ^{ab}	0.20±0.00 ^b	0.21±0.01 ^{bc}	0.22±0.02 ^c	0.23±0.01 ^c
DEP5 – (R) 0.20%	0.20±0.03 ^{bc}	0.23±0.03 ^b	0.23±0.03 ^{bc}	0.23±0.02 ^b	0.24±0.02 ^b	0.23±0.01 ^c
DEP5 – (R) 0.40%	0.22±0.00 ^{ab}	0.21±0.02 ^{ab}	0.22±0.02 ^b	0.22±0.02 ^c	0.22±0.00 ^{bc}	0.23±0.01 ^{bc}

Valor promedio ± desviación estándar; los valores de la misma columna seguidos por letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

En cuanto al espesor (cm), el extracto DEP4 para hojas (DEP4-H), en ambas concentraciones, presenta diferencias significativas con respecto a los controles, mostrando valores más altos en todos los días evaluados (Cuadro 13). Esta propiedad no resulta favorable para la calidad de la tortilla, ya que es indicativo de que la tortilla tiende a endurecerse con el tiempo. Por otro lado, los demás tratamientos no muestran diferencias significativas

Cuadro 14. Monitoreo de contenido de humedad (%) en la vida de anaquel de tortilla de maíz a 4°C durante 15 días.

Tratamiento	Almacenamiento (días)					
	0	3	6	9	12	15
Control absoluto	45.0±3.02 ^a	41.99±1.37 ^b	43.88±0.87 ^a	44.79±0.83 ^a	43.15±0.59 ^a	42.18±0.16 ^{ab}
Benzoato de sodio 0.8%	47.02±3.71 ^a	45.17±1.19 ^a	43.84±1.34 ^a	44.48±1.16 ^a	42.39±1.06 ^{ab}	40.92±1.72 ^{abc}
DEP4 – (H) 0.2%	37.89±1.69 ^b	40.89±1.36 ^b	38.03±1.72 ^b	38.11±1.66 ^b	40.67±2.07 ^{ab}	38.46±0.95 ^c
DEP4 – (H) 0.4%	37.29±2.05 ^b	43.26±0.80 ^{ab}	41.63±1.15 ^{ab}	41.68±1.24 ^{bc}	39.08±0.69 ^c	38.47±1.30 ^c
DEP4 – (R) 0.2%	37.72±2.18 ^b	41.36±0.71 ^b	38.51±1.09 ^b	39.90±1.05 ^b	39.66±1.04 ^b	39.07±0.59 ^{bc}
DEP4 – (R) 0.4%	41.68±1.79 ^{ab}	42.0±0.35 ^b	39.91±1.94 ^b	39.63±1.09 ^c	41.43±2.0 ^{bc}	42.29±0.65 ^{ab}
DEP5 – (H) 0.20%	42.71±1.27 ^{ab}	43.22±0.61 ^{ab}	44.57±3.30 ^a	44.40±0.50 ^a	40.55±1.34 ^{ab}	41.72±1.78 ^{abc}
DEP5 – (H) 0.40%	42.81±1.56 ^{ab}	44.05±0.65 ^{ab}	45.39±2.77 ^a	43.77±0.60 ^{ab}	45.34±1.39 ^a	44.53±1.36 ^a
DEP5 – (R) 0.20%	42.96±1.38 ^{ab}	46.07±1.32 ^a	44.16±1.26 ^a	44.72±0.52 ^a	42.15±0.47 ^{ab}	42.91±1.59 ^a
DEP5 – (R) 0.40%	41.43±0.88 ^{ab}	42.41±0.45 ^b	44.88±1.50 ^a	41.38±0.38 ^{bc}	41.84±1.84 ^{abc}	44.29±0.41 ^a

Valor promedio ± desviación estándar; los valores de la misma columna seguidos por letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

Se observa que el contenido de humedad en el extracto DEP4 en hojas es bajo en los días 0, 6, 9 y 15 en comparación con el control absoluto (Cuadro 14). En el día 0, ambas concentraciones presentan un contenido de humedad de 37.89 ± 1.69 y $37.29 \pm 2.05\%$, respectivamente, mientras que el control absoluto muestra un contenido de $45.00 \pm 3.02\%$. En el día 6, se registra un contenido de $38.03 \pm 1.72\%$ en la concentración de 0.2%, comparado con 43.88 ± 0.87 y $43.84 \pm 1.34\%$ en el control absoluto y en el conservador comercial, respectivamente. En el día 9, los contenidos de humedad observados fueron 38.11 ± 1.66 y $41.68 \pm 1.24\%$ en ambas concentraciones, respectivamente.

El bajo contenido de humedad, en comparación con los controles, podría explicar los resultados observados en el grosor de la tortilla, ya que un mayor grosor podría ser indicativo de un menor contenido de humedad.

Cuadro 15. Monitoreo de pH en la vida de anaquel de tortilla de maíz a 4°C durante 15 días.

Tratamiento	Almacenamiento (días)					
	0	3	6	9	12	15
Control absoluto	6.97±0.07 ^a	6.90±0.02 ^a	6.78±0.01 ^b	6.81±0.02 ^a	6.57±0.01 ^b	6.49±0.01 ^a
Benzoato de sodio 0.8%	6.89±0.05 ^a	6.81±0.04 ^b	6.74±0.03 ^b	6.69±0.01 ^b	6.56±0.02 ^b	6.40±0.01 ^b
DEP4 – (H) 0.2%	6.49±0.21 ^b	6.85±0.06 ^{ab}	6.66±0.02 ^c	6.66±0.01 ^c	6.47±0.02 ^c	6.52±0.01 ^a
DEP4 – (H) 0.4%	6.72±0.03 ^{cd}	6.96±0.08 ^a	6.66±0.03 ^c	6.72±0.03 ^{ab}	6.45±0.02 ^c	6.23±0.01 ^d
DEP4 – (R) 0.2%	6.84±0.01 ^a	6.85±0.02 ^{ab}	6.74±0.02 ^b	6.44±0.01 ^d	5.95±0.02 ^d	5.38±0.01 ^c
DEP4 – (R) 0.4%	6.81±0.01 ^{bc}	6.34±0.40 ^b	6.68±0.03 ^{bc}	6.61±0.01 ^c	6.33±0.02 ^d	6.13±0.01 ^c
DEP5 – (H) 0.20%	7.07±0.01 ^a	6.87±0.02 ^{ab}	6.86±0.01 ^a	6.81±0.02 ^a	6.67±0.02 ^a	6.42±0.01 ^b
DEP5 – (H) 0.40%	6.82±0.03 ^{bc}	6.88±0.04 ^a	6.63±0.04 ^c	6.66±0.02 ^{bc}	6.48±0.02 ^b	6.35±0.01 ^{bc}
DEP5 – (R) 0.20%	6.92±0.02 ^a	6.83±0.02 ^{ab}	6.72±0.01 ^{bc}	6.80±0.00 ^a	6.52±0.02 ^c	6.39±0.01 ^b
DEP5 – (R) 0.40%	6.67±0.02 ^d	6.72±0.01 ^{ab}	6.58±0.02 ^c	6.64±0.02 ^{bc}	6.46±0.02 ^{bc}	6.29±0.02 ^{cd}

Valor promedio ± desviación estándar; los valores de la misma columna seguidos por letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

En el Cuadro 15 se puede apreciar que el potencial de hidrógeno (pH) de los controles tuvieron diferencias significativas en el último día monitoreado (día 15) con valores en el control absoluto de $6.49 \pm 0.01\%$ y en el control comercial de $6.40 \pm 0.01\%$. Los valores obtenidos en los tratamientos a los d0, d3, d6, d9 y d12 no fueron estadísticamente diferentes con respecto a los controles, a excepción del día 15 en los tratamientos DEP-H, DEP4-R y DEP5-R a la concentración del 0.4%, cuyos valores se muestran como 6.23 ± 0.01 , 6.13 ± 0.01 y $6.29 \pm 0.02\%$, respectivamente. Sin embargo, en el mismo día se obtuvo que a la concentración del 0.2% en el

DEP4-R tuvo diferencias, mostrando un valor de $5.38 \pm 0.01\%$, mientras que los controles muestran valores de 6.49 ± 0.01 y $6.40 \pm 0.01\%$, respectivamente.

Cuadro 16. Monitoreo de firmeza (N) en la vida de anaquel de tortilla de maíz a 4°C durante 15 días.

Tratamiento	Almacenamiento (días)					
	0	3	6	9	12	15
Control absoluto	5.83±0.37 ^a	6.18±0.08 ^a	6.13±0.06 ^a	6.22±0.06 ^a	6.42±0.08 ^a	6.57±0.10 ^{ab}
Benzoato de sodio 0.8%	5.65±0.61 ^a	6.13±0.06 ^a	6.20±0.09 ^a	6.28±0.10 ^a	6.12±0.08 ^b	6.30±0.05 ^{bc}
DEP4 – (H) 0.2%	5.73±0.25 ^a	6.02±0.73 ^a	6.08±0.06 ^a	6.25±0.05 ^a	6.25±0.05 ^{ab}	6.70±0.05 ^a
DEP4 – (H) 0.4%	5.93±0.16 ^a	6.65±0.31 ^a	6.17±0.13 ^a	6.32±0.06 ^a	6.25±0.05 ^{ab}	6.42±0.05 ^{ab}
DEP4 – (R) 0.2%	5.17±0.29 ^a	6.37±0.33 ^a	6.02±0.10 ^a	6.25±0.05 ^a	6.32±0.03 ^{ab}	6.50±0.08 ^{ab}
DEP4 – (R) 0.4%	5.22±0.28 ^a	6.18±0.10 ^b	6.23±0.06 ^a	6.18±0.06 ^a	6.33±0.13 ^{ab}	6.40±0.05 ^{ab}
DEP5 – (H) 0.20%	5.38±0.15 ^a	6.30±0.13 ^a	6.07±0.08 ^a	6.22±0.03 ^a	6.25±0.09 ^{ab}	6.68±0.16 ^a
DEP5 – (H) 0.40%	6.03±0.12 ^a	6.20±0.17 ^b	6.23±0.10 ^a	6.30±0.05 ^a	6.17±0.10 ^{ab}	6.30±0.05 ^b
DEP5 – (R) 0.20%	5.53±0.20 ^a	6.15±0.05 ^a	5.97±0.10 ^a	6.17±0.08 ^a	6.12±0.10 ^b	6.18±0.07 ^c
DEP5 – (R) 0.40%	5.42±0.24 ^a	6.03±0.03 ^b	6.18±0.03 ^a	6.27±0.03 ^a	6.18±0.06 ^{ab}	6.52±0.12 ^{ab}

Valor promedio \pm desviación estándar; los valores de la misma columna seguidos por letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

En los análisis de firmeza realizados tanto en los controles como en los tratamientos, no se observaron diferencias estadísticas significativas durante la vida de anaquel de tortilla. Esto sugiere que la incorporación de los extractos no tiene un impacto relevante en la estabilidad o consistencia de la tortilla.

Morales et al. (2017) llevaron a cabo un estudio comparando el contenido de humedad en dos tipos de tortillas: las producidas en tortillerías y las provenientes de supermercados, cuyas condiciones de almacenamiento difieren notablemente. Según los resultados, el contenido de humedad en las tortillas de tortillerías fue de 43.05%, mientras que en las de supermercados fue de 49.01%, valores similares a los reportados en los controles utilizados en el presente estudio.

Por otro lado, los tratamientos con extractos mostraron contenidos de humedad más bajos, como se mencionó anteriormente. Esta característica favorece una mayor vida útil, una mejor textura y calidad, preserva las propiedades organolépticas y funcionales de los alimentos, y garantiza la seguridad microbiológica.

Asimismo, López et al. (2015) reportaron que el diámetro y el espesor de las tortillas son factores determinantes en su vida útil, ya que están directamente relacionados con propiedades como el contenido de humedad, la textura y la susceptibilidad al desarrollo de microorganismos. Las tortillas con mayor diámetro y menor espesor tienen una mayor exposición a la deshidratación temprana, lo que puede afectar significativamente su calidad sensorial y reducir su vida útil, aunque esto también limita el crecimiento microbiano.

En contraste, las tortillas más gruesas y pequeñas presentan menor superficie expuesta, lo que puede reducir la deshidratación; sin embargo, su contenido de humedad resulta más difícil de controlar, lo que las hace más propensas al desarrollo de microorganismos (Gómez et al., 2020). En un estudio realizado por Martínez-Flores et al. (2004), evaluaron la vida útil de las tortillas midiendo el crecimiento de hongos y bacterias como los principales factores de deterioro. Los resultados indicaron que, a una temperatura de 4°C, la tortilla tenía una vida media de 8 días, mientras que a 22°C la vida útil se reducía a solo 3 días. Estos hallazgos pueden compararse con los resultados obtenidos en el presente estudio, en particular en lo que respecta al pH, el cual muestra una disminución en el control absoluto a partir del día 9.

En general, los extractos de *E. texana* podrían desempeñar un papel como conservador natural, dado que el pH en estas mezclas se encuentra en un rango de 5.1 a 6.5. Según diversas fuentes, las bacterias tienden a proliferar en ambientes con un pH de entre 6.5 y 7, mientras que los mohos lo hacen en rangos de pH entre 3.5 y 8. A pesar de esto, las propiedades bioactivas de los extractos tienen el potencial de inhibir total o parcialmente el crecimiento de estos microorganismos.

Asimismo, Rodríguez-Ambríz et al. (2008) afirman que el parámetro de firmeza es crucial para la aceptación del consumidor, ya que tortillas excesivamente rígidas o quebradizas tienden a ser rechazadas, incluso si son microbiológicamente seguras. Cabe señalar que una firmeza adecuada garantiza que las tortillas sean fáciles de doblar y manipular, conservando su funcionalidad. Serna-Saldivar (2010) indica que la firmeza ideal en una tortilla se encuentra en un rango que permite que sea lo suficientemente flexible para doblarse sin romperse, pero no tan blanda que pierda su estructura; es decir, la fuerza de compresión se encuentra entre 2 y 5 N (Newton). Esto coincide con los valores reportados en el presente estudio, que muestran valores

entre 5 y 6. Sin embargo, con el paso de los días estos valores tienden a aumentar debido a la pérdida progresiva de humedad del alimento.

4.8 Evaluación visual del color en la tortilla de maíz

En la Figura 26 se observa el cambio de color en las tortillas de control, atribuido a una mayor firmeza y al desarrollo de microorganismos. El control absoluto mostró el mayor crecimiento microbiano en comparación con el conservador comercial, lo que resultó en un cambio de color más evidente en el primero.

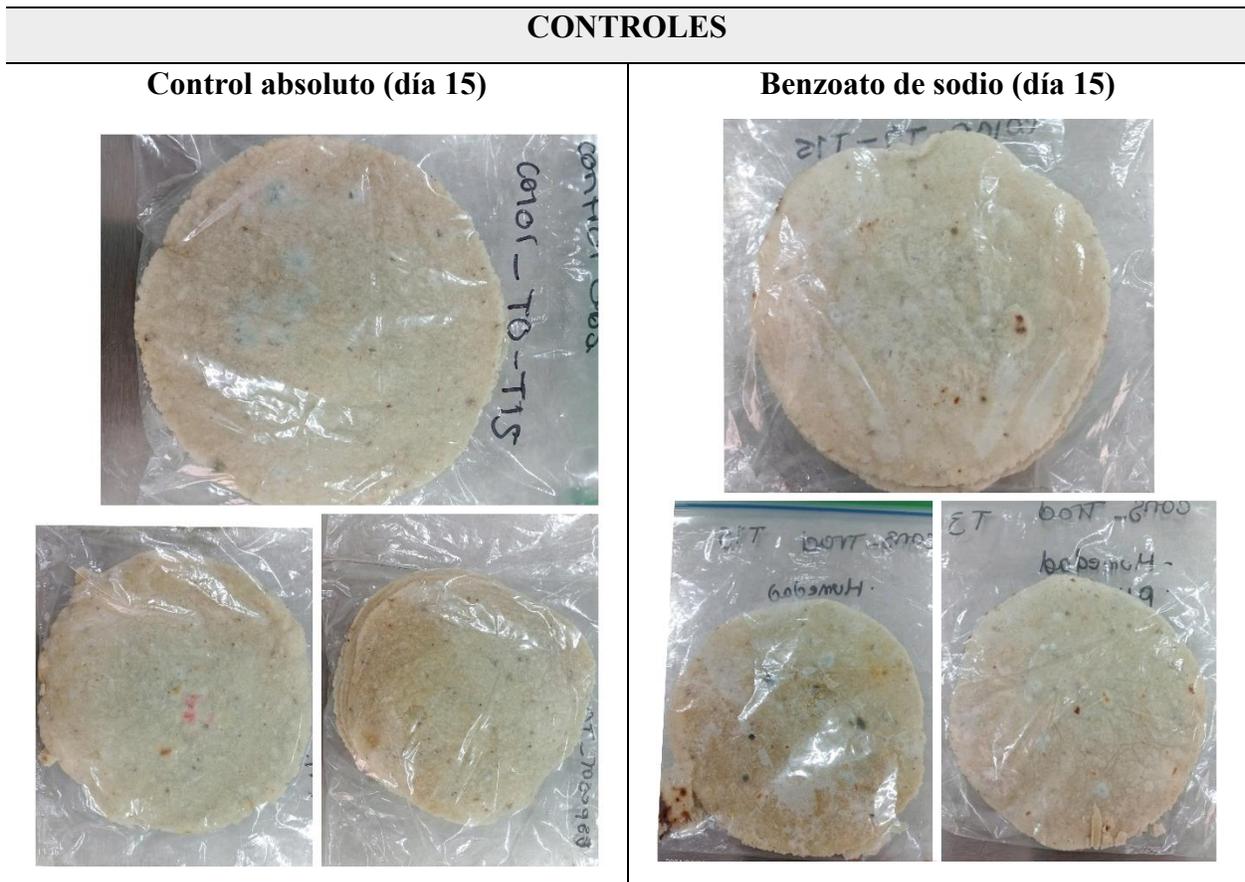


Figura 26. Evolución de la característica visual del color en tortillas de maíz utilizadas como controles.

DEP 4

Día 0



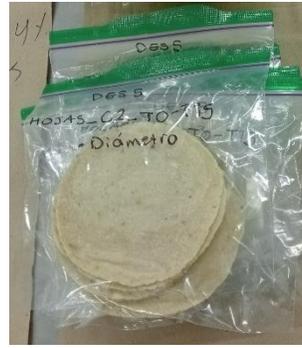
Día 3



Día 6



Día 9



Día 12



Día 15



Figura 27. Evolución en la característica visual de color en la tortilla de maíz adicionadas con el extracto DEP4.

En la Figura 27 se empiezan a observar cambios visuales en el color a partir del día 12; sin embargo, el color asociado a la incorporación del extracto no fue evidente. Por lo tanto, el cambio progresivo en el color se debe al desarrollo de microorganismos. Se puede notar que al día 15 también hay presencia de desarrollo microbiano, similar al observado en los controles, aunque en menor cantidad; esto podría atribuirse a la inhibición que el extracto ejerce sobre algunos de estos microorganismos.

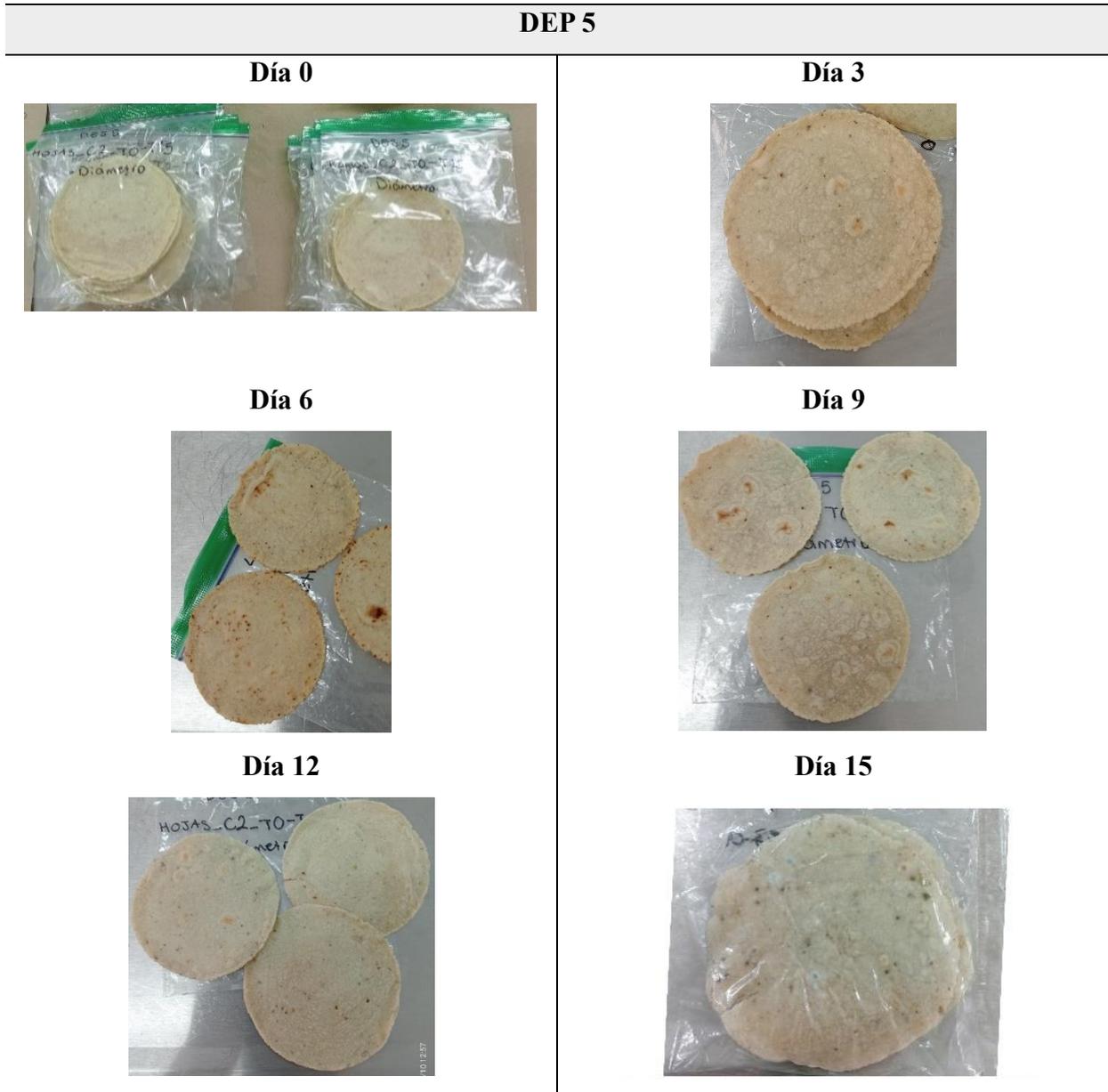


Figura 28. Evolución en la característica visual de color en la tortilla de maíz adicionadas con el extracto DEP5.

En la Figura 28 se observan cambios visuales en el color a partir del día 12; sin embargo, el color relacionado con la incorporación del extracto no fue evidente, lo que puede resultar favorable para el consumidor. Al día 15, se observa también desarrollo microbiano, similar al de los controles, aunque en menor cantidad. Esto se respalda con lo señalado por Gutiérrez-Llanos et al. (2023), quienes afirman que la proliferación de microorganismos, como mohos y levaduras, puede alterar el color de las tortillas. Por ejemplo, la presencia de hongos como *A. niger* y *Rhizopus* sp. puede generar manchas oscuras o verdosas en la superficie de las tortillas. Además, la pérdida de agua en las tortillas contribuye a una textura más firme y al oscurecimiento del color.

5 CONCLUSIONES

- En este trabajo de investigación se obtuvo y caracterizó fisicoquímicamente hojas y ramas de *E. texana*, con alto contenido de carbohidratos, incluidos azúcares totales y reductores, lo que la posiciona como una fuente natural innovadora para diversos sectores industriales, aunque con bajos contenidos de grasas y proteínas.
- Se obtuvieron extractos acuosos, hidroalcohólicos, etanólicos y eutécticos mediante agitación convencional. Los extractos con mayor rendimiento utilizaron etanol como solvente, debido a su amplia capacidad para extraer compuestos y su alta compatibilidad con la estructura vegetal.
- Se realizó la caracterización fitoquímica evaluando fenoles totales, flavonoides, azúcares, actividad antioxidante y otros parámetros, destacando los extractos con disolventes eutécticos profundos.
- Se evaluó *in vitro* la actividad antifúngica de los extractos con DEP, mostrando alta inhibición frente a *A. niger*, lo que sugiere un potencial para futuras investigaciones contra otros microorganismos de importancia en la industria alimentaria.
- Se analizó la vida útil de tortillas de maíz con adición de DEP en comparación con el control absoluto y el conservador comercial (benzoato de sodio). Algunos parámetros fisicoquímicos, como el contenido de humedad y pH fueron relativamente bajos con respecto a los controles, en ambas concentraciones (0.2% y 0.4%).
- Los DEP tienen potencial para brindar beneficios a la salud al ser incorporados en tortillas de maíz.

6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguilar-Galaviz, L., Cadena-Iñiguez, J., Ortega-Amaro, M. A., García-Flores, D. A., & Loera-Alvarado, G. (2024). Sangre de drago (*Jatropha dioica* Sessé) un recurso vegetal infrautilizado del semidesierto mexicano. *Agro-Divulgación*, 4(1).

Araujo, H. R. (2019). Extensión de la vida de anaquel de tortillas elaboradas con harina de maíz nixtamalizada obtenida por calentamiento óhmico utilizando conservadores.

Billeb de Sinibaldi, Ana Cristina y Bressani, Ricardo. (2001). Características de la cocción por nixtamalización de once variedades de maíz. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 51 (1), 86-94. Recuperado el 12 de junio de 2024 de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S000406222001000100012&lng=es&tlng=es.

Bozinou, E., Palaiogiannis, D., Athanasiadis, V., Chatzilazarou, A., Lalas, S. I., & Makris, D. P. (2022). Glycerol-based deep eutectic solvents for simultaneous organosolv treatment/extraction: High-performance recovery of antioxidant polyphenols from onion solid wastes. *Sustainability*, 14(23), 15715. <https://doi.org/10.3390/su142315715>

CONEVAL (Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social). 2010. Contenido y valor de las líneas de bienestar: base de datos en línea.

Corell, D. S., & Johnston, M. C. (1970). In *Manual of the vascular plants of Texas* (p. 819). Renner: Texas Research Foundation.

Cuevas-Martínez, D., Moreno-Ramos, C., Martínez-Manrique, E., Moreno-Martínez, E., & Méndez-Albores, A. (2010). Nutrition and texture evaluation of maize-white common bean nixtamalized tortillas. *Interciencia*, 35(11), 828-832.

De la Rosa-Millan, J. (2023). Assessment and Relationship between Chemical Composition and Microbial Load in Corn Tortillas Sampled from Different Vending Points in Two Regions of Mexico. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2023(1), 4211971.

Departamento de Botánica (2019), Instituto de Biología (IBUNAM), *Eysenhardtia texana* Scheele, ejemplar de: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas Vasculares.

En Portal de Datos Abiertos UNAM (en línea), México, Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en: <http://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:765727>

Dias, M. C., Pinto, D. C. G. A., & Silva, A. M. S. (2021). Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(17), 5377. <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>

Dionicio Concepción, O. (2020) Obtención de extractos de hojas de agrillo (*Rhus microphylla*) mediante proceso óhmico y su caracterización fisicoquímica. Tesis para obtener el grado de Licenciado en Biotecnología. Universidad Interserrana del Estado de Puebla Ahuacatlán. Ahuacatlán, Puebla.

Dirar, A. I., Alsaadi, D. H. M., Wada, M., Mohamed, M. A., Watanabe, T., & Devkota, H. P. (2019). Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 120, 261–267. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.07.003>

Djaoudene, O., Bachir-Bey, M., Schisano, C., Djebari, S., Tenore, G. C., & Romano, A. (2024). A sustainable extraction approach of phytochemicals from date (*Phoenix dactylifera* L.) fruit cultivars using ultrasound-assisted deep eutectic solvent: A comprehensive study on bioactivity and phenolic variability. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 13(2), 181. <https://doi.org/10.3390/antiox13020181>

Espejel-García, María V., Mora-Flores, José S., García-Salazar, José A., Pérez-Elizalde, Sergio, & García-Mata, Roberto. (2016). Caracterización del consumidor de tortilla en el Estado de México. *Agricultura, sociedad y desarrollo*, 13(3), 371-384. Recuperado en 12 de junio de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-54722016000300371&lng=es&tlng=es.

FAO (2016) Food and Agriculture Organization. <http://faostat.fao.org>

FAOSTAT (2009) Food Supply. Crops Primary Equivalent. Data Base. Consultado el 7 de mayo de 2013. Disponible en: <http://faostat3.fao.org/home/index.html>.

Fernández R., et. al. (2013). Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional. Una revisión indispensable. *Rev. Fitotec. Mex.*, Vol. 36 Supl. 3-A: 275 – 283.

García-Campoy, A., García, E., & Muñiz-Ramírez, A. (2020). Phytochemical and pharmacological study of the *eysenhardtia* genus. In *Plants* (Vol. 9, Issue 9, pp. 1–33). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/plants9091124>

García-Uriagüen P (2012). *La Alimentación de los Mexicanos. Cambios Sociales y Económicos, y su Impacto en los Hábitos Alimenticios*. Cámara Nacional de la Industria de la Transformación (CANACINTRA) D.F., México. 162 p.

Gasca-Mancera, J. (2007). Adición de harina de maíz nixtamalizado a masa fresca de maíz nixtamalizado. efecto en las propiedades texturales de masa y tortilla. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, vol. 6, 318.

Gasca-Mancera, J. C., & Casas-Alencáster, N. B. (2007). Adición de harina de maíz nixtamalizado a masa fresca de maíz nixtamalizado. Efecto en las propiedades texturales de masa y tortilla. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 6(3), 317-328.

Gómez, R. & Vargas, P. (2020). Influencia de las propiedades físicas en la calidad de almacenamiento de tortillas. *Food Quality and Shelf Life*, 8(1), 32-38.

González, F., Avila, M., Gil, Y., y Velasco, D. (2016). Proceso de fabricación de la harina precocida de maíz. *Facultad de Ingeniería*, 609028418, 16.

González-Jácome, Alba y Laura Reyes. (2014). El conocimiento agrícola tradicional, la milpa y la alimentación: el caso del Valle de Ixtlahuaca, Estado de México. *Geografía Agrícola* 52/53: 21-42.

Guerrero Villanueva M M G, Loarca-Piña M G F, Olimpia Mendoza Díaz S O, Ramos Gómez M,Reinoso Camacho R, Figueroa Cardenas JD. (2012). Efecto del consumo de tortilla de maíz pigmentado(*Zea mays* L.) en indicadores de riesgo de cáncer de colon. *Revista electrónica de divulgación de la investigación*. Volumen 02

Guzmán, A. Q., Flores, M. E. J., Feria, J. S., Montealvo, M. G. M., & Wang, Y. J. (2011). Rheological and thermal properties of masa as related to changes in corn protein during nixtamalization. *Journal of Cereal Science*, 53(1), 139-147.

Jasso de Rodríguez, D. J., Puente-Romero, G. N., Díaz-Jiménez, L., Rodríguez-García, R., Ramírez-Rodríguez, H., Villarreal-Quintanilla, J. A., Flores-López, M. L., CarrilloLomelí, D. A., & Genisheva, Z. A. (2019). *In vitro* gastrointestinal digestion of microencapsulated extracts of *Flourensia cernua*, *F. microphylla*, and *F. retinophylla*. *Industrial Crops and Products*, 138. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.06.007>

Jiménez-Ferrer, G., López-Carmona, M., Nahed-Toral, J., Ochoa-Gaona, S., & De Jong, B. (2008). Árboles y arbustos forrajeros de la región norte-tzotzil de Chiapas, México Fodder trees and shrubs of the north-tzotzil region of Chiapas, Mexico. In *Vet. Méx* (Vol. 39, Issue 2).

Ko, H. C., Lee, J. Y., Jang, M. G., Song, H., & Kim, S.-J. (2018). Seasonal variations in the phenolic compounds and antioxidant activity of *Sasa quelpaertensis*. *Industrial Crops and Products*, 122, 506–512. doi:10.1016/j.indcrop.2018.06.031

Liew, S. Q., Ngoh, G. C., Yusoff, R., & Teoh, W. H. (2018). Acid and Deep Eutectic Solvent (DES) extraction of pectin from pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) peels. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.11.001>

Lilly, S. J. (2001). *Arborists' certification study guide*. Champaign, IL, USA: International Society of Arboriculture.

Lira-Saldívar, R. H., Hernández-Suárez, M., Hernández-Castillo, F. D. “Activity of *Larrea tridentata* (D. C.) Coville L. extracts and chitosan against fungi that affect horticultural crops”. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 2006; 12(2): 211-216.

López, A. & Sánchez, M. (2015). Factores que afectan la conservación de las tortillas de maíz: Un enfoque en el grosor y el diámetro. *Journal of Food Science and Technology*, 29(3), 112-120.

Luna, L. B. (2017). Efecto de tres disoluciones de Ca (OH)₂ en las propiedades de la masa de nejayote.

Lustre Sánchez, Hermes. (2022, marzo-abril). Los superpoderes de las plantas: los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa. *Revista Digital Universitaria (RDU)*, 23(2). <http://doi.org/10.22201/cuaieed.16076079e.2022.23.2.10>

Martínez-Flores, H. E., Gaytán-Martínez, M., Figueroa-Cárdenas, J. D., Martínez-Bustos, F., Reyes-Vega, M. D., & Rodríguez-Vidal, A. (2004). Effect of some preservatives on shelf-life of corn tortillas obtained from extruded masa. *Agrociencia*, 38(3), 285-292.

Martínez-Trinidad, Tomás, Plascencia-Escalante, Francisca O., & Islas-Rodríguez, Lisbet. (2013). La relación entre los carbohidratos y la vitalidad en árboles urbanos. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 19(3), 459-468. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2012.03.016>

Meléndez Pastrana, I. Y., Rodríguez Morachis, M. A., Rodríguez Medina, M. A., & Zorrilla Briones, F. (2021). Determinación de la vida útil de la tortilla de maíz adicionada con aceite esencial de tomillo a través de pruebas de vida acelerada. *RIDE Revista Iberoamericana Para La Investigación Y El Desarrollo Educativo*, 12(23). <https://doi.org/10.23913/ride.v12i23.1017>

México Produce. 2007. La tortilla: una tradición muy nutritiva (2010). <http://www.mexicoproduce.mx/articulos/tortilla.html>.

Montenegro Ruiz, I. C., & Melgarejo Muñoz, I. M. (2012). Variación del contenido de azúcares totales y azúcares reductores en el musgo *pleurozium schreberi* (hylocomiaceae) bajo condiciones de déficit hídrico. *Acta Biológica Colombiana*, 17(3), 599-610.

Morales, J. C., & Zepeda, R. A. G. (2017). Effect of Different Corn Processing Techniques in the Nutritional Composition of Nixtamalized Corn Tortillas. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 07(02). doi:10.4172/2155-9600.1000580

Narváez-Mastache, José Manuel; Soto, Claudia; Delgado, Guillermo (2007). Antioxidant Evaluation of *Eysenhardtia* Species (Fabaceae): Relay Synthesis of 3-O-Acetyl-11 α ,12 α -epoxy-oleanan-28,13 β -olide Isolated from *E. platycarpa* and Its Protective Effect in Experimental Diabetes. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 30(8), 1503–1510. doi:10.1248/bpb.30.1503

NORMA Oficial Mexicana NOM-187-SSA1/SCFI-2002, Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=691995&fecha=18/08/2003#gsc.tab=0

Ordaz-Ortiz, J. J., and M. G. Vázquez-Carrillo. 1997. Shelf-life and sensorial evaluation of corn tortillas, made with preservatives and texture conditioners. *Arch. Latinoam. Nutr.* 47:372-376.

Ortega-Paczka R (2003) La diversidad del maíz en México. In: Sin Maíz No Hay País. G Esteva, C Marielle (eds). Culturas Populares de México. D.F., México. pp:123-154.

Ortiz López, Marly, Delgado Alvarado, Adriana, Herrera Cabrera, B. Edgar, Árevalo Galarza, María De Lourdes, & Barrera Rodríguez, Ariadna I. (2019). Efecto de dos métodos de secado en los compuestos fenólicos totales, L-DOPA y la actividad antioxidante de *Vicia faba* L.. *Nova scientia*, 11(23), 00010. <https://doi.org/10.21640/ns.v11i23.2093>

Pablo-Pérez, S. S., Parada-Cruz, B., Barbier, O. C., & Meléndez-Camargo, M. E. (2018). The Ethanolic Extract of *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg. Bark and Its Fractions Delay the Progression of Rheumatoid Arthritis and Show Antinociceptive Activity in Murine Models. *Iranian journal of pharmaceutical research : IJPR*, 17(1), 236–248.

Pallardy, S. G. (2008). *Physiology of woody plants* (3rd ed.). New York, USA: Academic Press.

Paredes López, O., Guevara Lara, F., & Bello Pérez, L. A. (2010). La nixtamalización y el valor nutritivo del maíz. *Ciencias*, 92(092). Recuperado a partir de <https://revistas.unam.mx/index.php/cns/article/view/14831>

R. H. Lira-Saldívar, Balvantín-García, G.F., Hernández-Castillo, F.D., Gamboa-Alvarado, R., Jasso-de-Rodríguez, D., and Jiménez-Díaz, F. “Evaluation of resin content and the antifungal effect of *Larrea tridentata* (Sesse and Moc. Ex D.C.) Coville extracts from two Mexican deserts against *Pythium* sp.” *Pringsh. Revista Mexicana de Fitopatología* 2003; 21:97-101.

Rodas, M. D. C. S. (2013). *Nutrición básica y aplicada*.

Rodríguez Calderón, Teresita de Jesús, Chávez Mejía, María Cristina, Thomé Ortiz, Humberto, & Miranda Román, Guillermo. (2017). Elaboración y consumo de tortillas como patrimonio cultural de San Pedro del Rosal, México. *Región y sociedad*, 29(70), 155-179. <https://doi.org/10.22198/rys.2017.70.a288>

Rodríguez-Ambriz, S. L., Islas-Hernández, J. J., & Bello-Pérez, L. A. (2008). Retrogradation and texture changes in tortillas during storage. *Food Science and Technology International*, 14(4), 319-327.

Rooney L.W. y Serna S.O. (2016). Tortillas. Módulo de Referencia en Ciencia de los alimentos. 90-96. Monterrey, México. Elsevier. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00124-4>.

Ruiz-Bustos, E., Velazquez, C., Garibay-Escobar, A., García, Z., Plascencia-Jatomea, M., Cortez-Rocha, M. O. Hernandez-Martínez, J. and Robles-Zepeda, R.E. “Antibacterial and Antifungal Activities of Some Mexican Medicinal Plants”. *Journal of Medicinal Food*, 2009; 12 (6), 1398-1402.

S. Moreno-Limón, and L. González-Solís, S. M. Salcedo-Martínez, M. L. Cárdenas-Ávila and A. Perales-Ramírez (2011). “Antifungal effect from Gobernadora extracts (*Larrea tridentata* L.) on *Aspergillus flavus* and *Penicillium* sp. *in vitro* inhibition”. Efecto antifúngico de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata* L.) sobre la inhibición *in vitro* de *Aspergillus flavus* y *Penicillium* sp. *Polibotánica*; 32:193-205.

SADER (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural). (2021). Estima Agricultura crecimiento de 2.6 por ciento en la producción de maíz grano en año agrícola. Recovery October 2022, from: <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/>

Salas-Valdez, R., Chávez-González, M. L., Martínez-Hernández, J. L., & Torres-León, C. (2023). *Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica*.

Salinas-Moreno, Y., Pérez-Herrera, P., Castillo-Merino, J., y Álvarez-Rivas, L. (2003). Relación de amilosa: amilopectina en el almidón de harina nixtamalizada de maíz y su efecto en la calidad de la tortilla. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 26 (2), 115-121.

Santos-Martín, M., Cubero-Cardoso, J., González-Domínguez, R., Cortés-Triviño, E., Sayago, A., Urbano, J., & Fernández-Recamales, Á. (2023). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from blueberry leaves using natural deep eutectic solvents (NADES) for the valorization of agrifood wastes. *Biomass & Bioenergy*, 175(106882), 106882. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2023.106882>

Serna-Saldívar S O, C A Amaya-Guerra (2008) El papel de la tortilla nixtamalizada en la nutrición y la alimentación. In: Nixtamalización del Maíz a la Tortilla. Aspectos Nutrimientales y Toxicológicos. M E Rodríguez-García, S O Serna-Saldívar, F Sánchez-Sinencio (eds). Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, México. pp:105-151.

Serna-Saldivar, S. O. (2010). *Cereals: Chemistry and Technology*. 2da edición. AACC International Press.

Suárez Camacho, F. (2023). Perfil fitoquímico y potencial bioactivo de extractos de hoja y rama de *Eysenhardtia texana*.

Sulaiman, C. T., Gopalakrishnan, V. K., & Balachandran, I. (2014). Phenolic Compounds and Antioxidant Properties of Selected Acacia Species. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 4(4), 316–324. doi:10.1080/22311866.2014.957058

Téllez-Girón A., G. Acuff R., Vanderzant, and C. L. Rooney W. 1988. *J. Food Protection*. 51 (12): 945-948.

Torres, P. I., Ramirez-Wong, B., Serna-Saldivar, S. O., & Rooney, L. W. (1993). Effect of sorghum flour addition on the characteristics of wheat flour tortillas. *Cereal Chemistry*, 70(1), 8-13.

Valenzuela (2019). Evaluación de la actividad antimicrobiana de dos envases activos con aceite esencial de azahar (*Citrus aurantium*) en la vida de anaquel de la tortilla de maíz.

Vásquez Lara (1995). Evaluación de los cambios en solubilidad que sufren las proteínas durante el proceso de elaboración de la tortilla de maíz y sus efectos en la textura de la masa y el producto final (Master's thesis, VASQUEZ LARA, FRANCISCO).

Vinces Guillen, R y Zavala Bustamante, V. (2020). Obtención de harina nixtamalizada de maíz morado (*Zea Mays L.*) por extrusión. Universidad San Ignacio de Loyola.

Vines, R. A. (1960). In *Trees, shrubs and woody vines of the Southwest* (p. 528). Austin: University of Texas Press.

Wächter, G. A., Hoffmann, J. J., Furbacher, T., Blake, M. E., & Timmermann, B. N. (1999). *Antibacterial and antifungal flavanones from Eysenhardtia texana*. *Phytochemistry*, 52(8), 1469–1471. doi:10.1016/s0031-9422(99)00221-6

Gutiérrez-Llanos, Margarita, Alemán-de la Torre, Ivone, Salinas-Moreno, Yolanda, Santillán-Fernández, Alberto, Ramírez-Díaz, José Luis, & Ledesma-Miramontes, Alejandro. (2023). Color y características nutraceuticas de tortillas de maíces (*Zea mays* L.) nativos preparadas con diferentes dosis de álcali y refrigeradas. *Revista fitotecnia mexicana*, 46(2), 115-126. Epub 02 de abril de 2024.<https://doi.org/10.35196/rfm.2023.2.115>